

БИБЛИОТЕКА ПРАКТИЧЕСКОГО ВРАЧА

О. Н. Елизарова

ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ПОРОГОВЫХ ДОЗ
ПРОМЫШЛЕННЫХ ЯДОВ
ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ
ВВЕДЕНИИ

Библиотека
практического
врача

О. Н. Елизарова

ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ПОРОГОВЫХ ДОЗ
ПРОМЫШЛЕННЫХ ЯДОВ
ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ
ВВЕДЕНИИ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
Москва

1 9 6 2

бо
то
вр
ны
сре
до
мо
и
лаб
пол
ток
мы
рон

ски
вест
мо
блю
ност
ства
лиц
мич
яда
водо
ческ
хим
атмо
ное
ного

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
<i>Глава 1. Некоторые предпосылки к проведению эксперимен-</i>	
<i>тальных исследований на животных</i>	<i>6</i>
Состояние организма подопытных животных	7
Внешний вид и поведение животного	7
Условия содержания лабораторных животных	9
Выбор животных для эксперимента	12
Маркировка животных	16
<i>Глава 2. Особенности действия ядов при пероральном вве-</i>	
<i>дении</i>	<i>21</i>
Формы перорального введения химических препаратов	28
Введение токсических веществ в чистом виде	28
Введение токсических веществ в растворах	28
Способы перорального введения химических веществ	30
Введение токсического вещества в ротовую полость	31
Введение токсических веществ непосредственно в же-	
лудок	33
Введение химического вещества с питьевой водой и	
пищей	40
<i>Глава 3. Определение токсичности химических веществ при</i>	
<i>пероральном введении</i>	<i>45</i>
Схема проведения санитарно-токсикологического иссле-	
дования	46
Проведение острого токсикологического эксперимента	48
Постановка подострого опыта	55
Особенности хронического санитарно-токсикологическо-	
го исследования	57
<i>Глава 4. Некоторые методики, применяемые в санитарно-</i>	
<i>токсикологическом эксперименте</i>	<i>65</i>
Наблюдение за динамикой веса животных	66
Измерение температуры тела	69
Регистрация дыхания	71
Регистрация пульса	72
Показатели дыхания, пульса и температуры у животных	
Исследование газообмена (потребления кислорода)	73
Изучение иммунобиологической реактивности	74
Определение продолжительности жизни в условиях кис-	
лородного голодания	76
	79

Исследование работоспособности	79
Пробы с изменением режима существования животных .	80
Функции сердечно-сосудистой системы	82
Изучение биотоков сердца	82
Измерение кровяного давления	82
Изучение морфологической картины и физико-химичес-	
ких свойств крови	84
Значение биохимических показателей крови и мочи . .	87
Способы взятия крови и сбора мочи	88
Функциональные исследования печени	90
Функциональные исследования почек	94
Некоторые методы исследования функции пищеварения .	94
Методики, применяемые для оценки функции пищева-	
рения у собак	95
Методики, применяемые для изучений функций желуд-	
ка кроликов	98
Методы изучения состояния высшей нервной деятельности	107
Исследование безусловнорефлекторной деятельности .	107
Изучение состояния условнорефлекторной деятельности	
животных	113
Глава 5. Некоторые приемы обработки полученных экспери-	
ментальных данных	143
Способы графического изображения	143
Статистическая обработка экспериментальных материалов	147
Построение кривых индивидуальной чувствительности .	148
Вычисление средней смертельной дозы	153
Литература	163

ВВЕДЕНИЕ

В народное хозяйство нашей страны внедряется все больше новых химических веществ. Это ставит перед токсикологами и гигиенистами серьезную задачу своевременно оценить возможные токсические свойства данных веществ и допустимые количества их во внешней среде. Такая проверка в экспериментах на животных должна широко охватить номенклатуру вновь вводимой химической продукции, промежуточные соединения и вещества, применяемые в качестве сырья на стадии лабораторных химических исследований и в условиях полупроизводственных установок. Предварительная токсикологическая характеристика вновь синтезируемых веществ позволяет направить мысль химика в сторону изыскания менее токсических продуктов.

Не приходится оставлять без внимания и те химические вещества, токсические свойства которых уже известны. Внедрение новой более совершенной технологии может иногда повлечь за собой выявление ранее не наблюдавшихся в производственных условиях разновидностей токсического действия.

Широкая химизация всех отраслей народного хозяйства нашей страны вносит изменения в контингенты лиц, которые могут соприкасаться с токсическими химическими веществами. Если раньше с промышленными ядами встречались главным образом в условиях производства взрослые люди, в большинстве случаев практически здоровые, то в настоящее время с токсическими химическими веществами (например, при загрязнении атмосферного воздуха, водоемов и пр.) могут длительное время соприкасаться лица всех возрастов и различного состояния здоровья.

Изменившееся положение поставило новые задачи, для решения которых нужен был особый подход. Так начал развиваться санитарно-токсикологический эксперимент, постепенно перерастая в новую отрасль токсикологии, тесно связанную с коммунальной гигиеной. В создании этой отрасли токсикологии принимали активное участие видные советские токсикологи — проф. Н. С. Правдин, проф. Н. В. Лазарев, проф. А. И. Черкесс и многие другие. Следует отметить большие заслуги и представителей коммунальной гигиены — проф. С. Н. Черкинского, проф. В. А. Рязанова и др., которые широко привлекают токсикологический эксперимент для целей коммунальной гигиены.

Особенности санитарно-токсикологического эксперимента заключаются в том, что он подчинен требованиям гигиенического нормирования. Отсюда вытекает необходимость определения пороговых и подпороговых доз с помощью наиболее чувствительных методов в длительном хроническом эксперименте.

Для коммунальной гигиены, в частности гигиены воды, особую роль играет изучение действия токсических химических веществ при пероральном введении яда. Пероральный путь введения токсических веществ в санитарно-токсикологическом эксперименте, кроме общих токсикологических методик, требует применения специфических приемов. К ним можно отнести, например, изучение изменений функций желудка и других частей пищеварительного тракта, с которыми непосредственно соприкасаются токсические химические вещества.

Токсикологическая лаборатория Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана, созданная проф. Н. С. Правдиным, около 20 лет занимается исследованием действия различных токсических веществ при пероральном их поступлении. В литературе не освещены особенности санитарно-токсикологических исследований при пероральном пути введения ядов, поэтому мы сочли не бесполезным поделиться опытом, накопленным в лаборатории по этому вопросу (в ценном руководстве проф. Н. С. Правдина «Методика малой токсикологии промышленных ядов», изданном в 1947 г., основной упор сделан на токсикологические исследования при ингаляционном пути поступления токсических веществ).

В связи с увеличивающимися запросами практики все больше врачей-гигиенистов использует в своей работе по нормированию санитарно-токсикологический эксперимент. В ряды токсикологов вливаются новые молодые кадры. Данная книга рассчитана как первоначальное справочное методическое пособие для этих лиц. В ней приведены общие приемы проведения токсикологических исследований, необходимые для получения достоверных данных, а также изложены методики, которые могут быть использованы в опытах с пероральным введением ядов.

Учитывая предназначение книги, из огромного арсенала самых разнообразных токсикологических методик предпочтение отдавалось методикам чувствительным, которые могут с достаточной точностью и достоверностью отметить изменения в функциях организма животных, но не требуют специальной сложной аппаратуры¹.

Как известно, токсикологические эксперименты требуют большого количества подопытных животных. Поэтому было обращено внимание на такие методики, в которых можно использовать мелких лабораторных животных.

Мы должны затронуть еще один важный вопрос. Многие химические вещества, обладая сами по себе незначительной токсичностью, могут являться канцерогенами. Этому не следует забывать. Изучением канцерогенных свойств веществ занимаются научно-исследовательские онкологические институты, где разработаны специальные методики исследований. Токсикологи обычно не включают в программу своих исследований выявление канцерогенности изучаемых химических веществ. Но, начиная исследования по гигиеническому нормированию того или иного химического вещества, следует поинтересоваться литературными данными о его возможном канцерогенном действии.

¹ Часть соответствующих методик была разработана под руководством проф. А. Г. Бухтиярова.

Глава 1

НЕКОТОРЫЕ ПРЕДПОСЫЛКИ К ПРОВЕДЕНИЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЖИВОТНЫХ

Необходимым условием получения достоверных результатов в ходе постановки санитарно-токсикологических экспериментов, кроме соблюдения специальных требований (определяемых конкретным содержанием каждого исследования), является также учет ряда факторов, имеющих общее значение для всех случаев научно-исследовательской работы на животных.

Правильная и успешная работа на лабораторных животных, удачно названных А. И. Метелкиным «живыми реагентами», невозможна при отсутствии достаточных представлений о характерных биологических особенностях и условиях их нормального существования (нормативах содержания в виварии). Нельзя, например, упускать из вида факт широкого распространения среди мелких лабораторных животных (особенно мышей, крыс и кроликов) спонтанного бацилло- и вирусоносительства, который может обусловить развитие интеркуррентных заболеваний на фоне предпринятого экспериментального вмешательства. Вид, пол, возраст, условия содержания и разведения определяют в своей совокупности уровень реактивности организма животного по отношению к конкретным внешним воздействиям.

Подробное освещение затронутой проблемы выходит за рамки задач настоящей книги. Ограничиваясь вследствие этого кратким изложением наиболее общих сведений, необходимых экспериментаторам, мы отсылаем читателей, интересующихся материалами по вопро-

сам частного характера, к специальной литературе, посвященной лабораторным животным [К. Л. Ковалевский; А. И. Метелкин; П. П. Сахаров; Н. В. Терентьев; Корс и соавторы (Cohrs и др.); Гофман и Курцер (Hoffman и Kurzer); Ниберле и Корс (Nieberle и Cohrs)].

СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Как правило, санитарно-токсикологический эксперимент ставится на здоровых животных. Безусловным требованием является подбор животных из хозяйств, заведомо благополучных в отношении заболеваний, свободных от интеркуррентных инфекций.

Опыты проводятся на таких животных, у которых особенности их организма не мешают проявлению действия яда. Особенности организма животных могут быть физиологическими, составляющими одну из сторон нормального существования животных (об этом будет сказано ниже), и патологическими — при заболевании животного, нарушении нормального взаимодействия организма со средой. Выявлять заболевания животных, находящихся в виварии, должны ветеринарные работники, но это не снимает с экспериментатора обязанности внимательно следить за состоянием своих подопытных животных, отмечая патологические симптомы и сигнализируя о них ветеринарным работникам.

Внешний вид и поведение животного

Внешний облик животных, принадлежащих к одному и тому же биологическому виду, во многом определяется их возрастными особенностями. Одним из главных критериев для суждения о возрасте животного служит его вес. Данные, отражающие корреляцию между возрастом и средним весом особей разных видов, представлены в табл. 4 (глава 4).

У здорового животного телосложение правильное, область живота в объеме не увеличена. Исхудание, как и явная тучность, заставляют предполагать или заболевание животного, или погрешности в его содержании.

Необходимо обратить внимание на общий вид животного, а также на то, как оно двигается. При многих заболеваниях внешний вид животного изменяется. На-

пример, у кроликов, пораженных энцефаломиелитом, наблюдаются дрожание головы и отдельных мышечных групп, судороги, парезы и параличи, чаще задних ног, искривление головы на сторону. Животные подтягивают конечности под себя или выпрямляют их в сторону от туловища, неестественно выворачивая в суставах. Параличи задних конечностей наблюдаются при аналогичном заболевании и у мышей (П. П. Сахаров). Искривление головы на сторону может свидетельствовать о наличии у крыс пастереллеза.

При осмотре мышей иногда обнаруживается отсутствие у них части конечности, хвоста. Это заставляет предполагать, что такие животные страдают хронической формой эктромелии. Инфекционная эктромелия мышей и крыс в ее хронической кожной форме характеризуется подкожным отеком, чаще задних конечностей и хвоста. Поврежденная кожа покрывается язвами и корками. В дальнейшем конечность или хвост подвергаются гангренозному процессу, который заканчивается самоампутацией по демаркационной линии (П. П. Сахаров).

Шерсть у здоровых животных должна быть мягкая, гладкая, блестящая, плотно прилегающая к поверхности тела, нормального для данного вида животных цвета. У больных животных шерсть взъерошенная, волосяной покров лишен блеска, на ощупь он кажется более жестким, волосы легко выпадают. Такая картина наблюдается, например, при вирусных пневмониях мышей, инфекционном катаре мышей и крыс, псевдотуберкулезе грызунов и т. п. Загрязненная шерсть в области анального отверстия говорит о нарушениях функции кишечника, которые могут зависеть от инфекционных болезней (например, тиф мышей и крыс, кишечная форма кокцидиоза у кроликов и т. п.). Пожелтевшая шерсть и облысение белых крыс свидетельствуют об их старом возрасте. Но отсутствие шерсти у животных может быть вызвано и наличием грибковых заболеваний. Так, появление на разных частях волосяного покрова (чаще на голове) кругловатых очажков с выпавшими или как бы подстриженными волосами может говорить о заболевании стригущим лишаем.

Частым осложнением при хронической форме пастереллеза являются абсцессы, локализующиеся в различных частях тела, чаще под кожей около нижней челюсти.

При пастереллезе у мышей можно обнаружить отеки в области передней части головы и носовой области (К. Л. Ковалевский). В некоторых случаях у мелких грызунов обнаруживается кожное заболевание, характеризующееся появлением черных струпьев по краям ушей, на кончике носа, у глаз, рта, а иногда по всей голове и спине. Эти кожные изменения вызываются наличием у животных блох (А. Возная-Гладилова).

Следует обратить внимание, не чихают ли животные, не трут ли мордочку передними лапками.

Выделение слизи, мокрая шерсть около носовых отверстий, «зализы» шерсти на передних конечностях свидетельствуют о наличии заболеваний, часто заразных (инфекционный насморк — хроническая форма пастереллеза и т. п.).

Наружный осмотр завершается проверкой состояния глаз и ушных раковин (наличие в ушных раковинах струпьев и корок у кроликов может говорить об ушной чесотке).

После наружного осмотра определяют показатели основных физиологических функций: дыхание, пульс, температуру тела (подробности см. в главе 4).

УСЛОВИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Как указывалось выше, результаты опыта бывают сомнительными, если подопытные животные имеют какие-либо патологические отклонения. Эти отклонения могут возникнуть за счет условий содержания животных. Не только общеизвестные факторы (питание, гигиеническое содержание животных, температура помещения и т. п.), но и как будто малозначащие факты, например устройство клеток подопытных животных, могут изменить реакцию животных на действие яда (Н. С. Правдин). Непредусмотренное экспериментатором изменение в условиях существования животного может спутать всю картину опыта. Для чистоты эксперимента обязательным является постоянство условий содержания животных на протяжении всего опыта. Отсюда вытекает необходимость для экспериментатора самому контролировать содержание животных в виварии, несмотря на то что обычно животных обслуживают специальные работники.

Комнаты вивария должны отвечать всем гигиеническим требованиям, предъявляемым к подобного рода помещениям. Скученное содержание животных, особенно грызунов, недопустимо. Животных следует размещать так, чтобы в одной комнате находился только один вид животных. Отдельных, особенно ценных лабораторных животных, желательно помещать в боксы. Это предотвращает угрозу их инфицирования.

Количество животных, помещаемых в клетку, зависит от ее величины. В стандартных клетках, предназначенных для взрослых крупных животных, где они размещаются по одному, можно содержать по 2 щенка, по 2—3 котенка, по 3 крольчонка. Что касается грызунов, то при отсадке молодняка их размещают в следующем количестве: морских свинок по 5—6, крыс по 8—10, мышей по 15—20 (К. Л. Ковалевский).

Очень важно соблюдение температурного режима. Температура воздуха внутри помещения, где размещены крысы, должна быть в пределах 16—18°, а для мышей нужна температура несколько выше — 18—22°. Мелкие грызуны плохо переносят понижение температуры, а также сквозняки. Влажность воздуха должна быть не более 30—50% (при температуре 18—20°). Кролики также чувствительны к сквознякам, но не требуют высокой температуры воздуха — она не должна превышать 18°. Кролики хорошо переносят внекомнатное содержание. Под навесом, закрытым с трех сторон, размещают деревянные клетки-домики с передней решетчатой стенкой. Но внекомнатное содержание кроликов не во всех случаях отвечает условиям проведения опыта. Например, при изучении функций желудка кроликам вводят водные растворы различных веществ в качестве раздражителя желудочной секреции. Так как зимой при внекомнатном содержании кролики получают не воду, а снег, то всасывание водных растворов происходит в других условиях, чем в теплое время года, что влияет на результаты исследования.

Мелких лабораторных животных обычно размещают в клетках. Мышей, особенно при небольшом сроке опыта, можно содержать в стеклянных банках или металлических ящичках (размером 30 × 20 см, высотой 24 см). Банки закрываются крышкой из сетки, а в ящичках в крышке проделываются многочисленные отверстия для

вентиляции. Стеклянные банки некоторые авторы (А. И. Метелкин) рекомендуют держать наклонно, поставив их на полукруглые подставки разной высоты. Обмен воздуха при боковом положении банки будет лучше. Через 4—5 дней мышей нужно перемещать в чистую банку или ящик.

Кошки сравнительно плохо переносят клеточное содержание, поэтому если необходимо длительно держать их в клетках, то необходимо обеспечить животных клетками больших размеров и время от времени выпускать гулять животных по комнате.

Следует принять меры, чтобы подопытные животные не могли соприкасаться с посторонними ядами, в том числе и с дезинфицирующими веществами. Например, нельзя для борьбы с мухами, клопами и другими насекомыми применять непосредственно в помещении, где размещены животные, ДДТ, дуст гексахлорана и т. п., обрабатывая клетки, в которых находятся животные, или распыляя вещества в воздухе. Даже минимальные количества инсектицидов могут действовать на животных. Так, десятикратное введение ДДТ или гексахлорана в дозе 0,2 мг/кг изменяло условнорефлекторную деятельность белых крыс (Н. М. Русин и Г. П. Андропова). Тем более недопустимо в целях борьбы с насекомыми обрабатывать инсектицидами самих животных. Слизывание даже небольших количеств этих веществ обычно приводит животных к гибели. Для обработки клетки должны быть вынесены из помещений, где содержатся животные, и внесены обратно только после надлежащего проветривания, когда не ощущается уже никакого запаха.

Питание животных производится два раза в день по нормам, предусмотренным приказом Министерства здравоохранения СССР¹. В эти нормы включены все необходимые компоненты для нормальной жизнедеятельности животных (белки, жиры, углеводы, минеральные вещества и витамины).

Для того чтобы избежать недостатка витаминов зимой и ранней весной, грызунам дают пророщенный зеленый овес. Собаки и кошки должны получать сырое мясо. Наиболее желательными являются брикетированные

¹ «О нормах кормления подопытных животных». Москва.

корма, которые обеспечивают однородное питание во все времена года.

Воду лабораторным животным следует давать в неограниченном количестве, так как отсутствие ее может привести к изменениям в состоянии организма. Например, у мышей может повыситься температура тела (Н. В. Лазарев). Необходимо следить, чтобы питьевая вода была свежей, чистой и вполне доброкачественной.

Размеры книги не позволяют более подробно остановиться на вопросах условий содержания животных. Детали можно получить в соответствующей литературе (К. Л. Ковалевский, А. И. Метелкин, П. П. Сахаров и соавторы).

ВЫБОР ЖИВОТНЫХ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Серьезным моментом является выбор животных для эксперимента. Неправильный, ошибочный выбор может извратить результаты опыта. Выбор животных для постановки санитарно-токсикологического эксперимента в каждом отдельном случае производится на основании литературных данных о химической природе изучаемого вещества и токсичности родственных ему соединений для различных видов животных. Хронические санитарно-токсикологические исследования проводятся, как правило, на представителях видов, обнаруживших наибольшую чувствительность при установлении параметров токсичности данного препарата в остром опыте.

Под видовой чувствительностью понимают неодинаковое отношение животных различных видов к одному и тому же яду. Какие-либо закономерности в этом вопросе до сих пор не установлены. Приведем несколько примеров: кошки по сравнению с собаками весьма чувствительны к карболовой кислоте и очень мало к апоморфину; травоядные животные, в особенности жвачные, гораздо более чувствительны к солям тяжелых металлов, чем плотоядные и всеядные животные (Н. П. Кравков). По нашим данным, нитрил акриловой кислоты в десять раз сильнее действует на мышей, нежели на крыс (Н. А. Забежинская).

Эфир для кроликов является гораздо более токсичным, чем для собак; дозы, вызывающие наркоз и остановку дыхания, стоят у кроликов почти рядом. Кролики

менее чувствительны к малым дозам тетраэтилсвинца, чем крысы (О. Н. Елизарова). Таких примеров можно привести очень много. Имеется различие и в силе действия ядов на организм животных и человека. В некоторых случаях животные определенных видов оказываются значительно менее чувствительными, чем организм человека. Так, собаки и кролики могут переносить атропин в дозе, превосходящей в 100 раз дозу, смертельную для человека. Кошки более чувствительны к атропину, но наиболее чувствительным к этому яду является человек (Н. П. Кравков). Наоборот, другие яды обладают более сильным действием на животных, нежели на человека. Известно, что мелких птиц (канарейки) применяли как индикатор для обнаружения в воздухе синильной кислоты или угарного газа. Собака также более чувствительна к синильной кислоте, чем человек: доза, вызывающая у собаки тяжелое отравление, на человека действует слабо.

Желательно токсическое вещество испытывать на животных, чувствительность которых к данному яду близка к чувствительности организма человека. Но, к сожалению, в большинстве случаев такие данные отсутствуют.

При исследовании новых химических веществ с неизвестным действием лучше всего экспериментировать на нескольких видах животных, выявляя наиболее чувствительных к данному яду. Нельзя рассчитывать, что более высоко организованные животные более чувствительны к яду. Хорошей иллюстрацией служит вышеприведенный пример с синильной кислотой, к действию которой собаки более чувствительны, чем человек.

Симптомы отравления тем или иным токсическим веществом также могут быть различными у человека и животных. Например, гексоген вызывает у людей лейкопению, а у лабораторных животных (кроликов и собак), наоборот, лейкоцитоз. Но характерные изменения в лейкоцитарной формуле, выражающиеся в увеличении числа лимфоцитов с параллельным уменьшением числа нейтрофилов, наблюдаемые у человека, отмечались и у животных (О. Н. Елизарова). Имеется много других примеров, показывающих различие симптомов отравления одним и тем же ядом у животных разных видов. Классическим примером может служить действие морфия: у собак наблюдается наркотическое действие, в какой-то ме-

ре сходное с действием на человека, а кошки реагируют на морфий сильным беспокойством и судорогами (Н. П. Кравков). Бензол вызывает у кроликов характерные изменения, сходные с изменениями крови у человека (лейкопения, аплазия кроветворных органов), у собак же наблюдается другая реакция — лейкоцитоз и гиперплазия костного мозга, селезенки и лимфатических узлов (Н. В. Лазарев). Значение видовой чувствительности экспериментальных животных ярко выявляется также в опытах с ядами метгемоглобинообразователями. В частности, для изучения специфического действия подобных веществ должны использоваться кошки или собаки, но не кролики, у которых метгемоглобин почти не образуется.

Следует отметить, что животные одного вида обладают различной индивидуальной чувствительностью к ядам. Об этом говорит тот факт, что при определении смертельной дозы какого-либо яда можно выявить такую смертельную дозу его, когда погибают только отдельные наиболее чувствительные животные. Вариабильность токсического эффекта, зависящая от индивидуальной чувствительности, может быть до некоторой степени устранена, если в опыте используют достаточно большое количество животных.

Возраст подопытного животного также имеет большое значение. При отравлении многими ядами молодые особи оказываются более чувствительными, чем взрослые животные. Поэтому, подбирая животных по возрасту, следует учитывать задачи исследования: если нужно производить острые опыты с целью выяснения параметров токсичности или картины отравления, то лучше брать взрослых животных. Наоборот, для хронических опытов с выявлением пороговых доз более пригодны молодые животные — они могут оказаться более чувствительными, прирост веса у них также может показать изменения в связи с действием яда. Если требуется длительная подготовка к опыту (например, при выработке условных рефлексов), то также необходимо брать молодых животных. У старых животных имеются свои особенности, они по-другому, чем молодые животные, могут отвечать на раздражители, поэтому их не всегда можно использовать в опытах, особенно в случаях изучения изменений высшей нервной деятельности.

О возрасте животных можно судить по их весу. Для острых опытов предпочтительно брать животных следующего веса: мыши 18—25 г, крысы 100—150 г, морские свинки 200—250 г, кролики 1800—2000 г, кошки 1500—2000 г. Острые опыты, а также исследования с использованием некоторых специальных методик (например, фракционное зондирование желудка и т. п.) можно проводить на животных и с бóльшим весом.

Вес животных, на которых ставится хронический опыт, может быть меньшим: мыши 15—18 г, крысы 90—100 г, кролики 1500—1800 г, кошки 1500—1600 г. Следует учитывать, что при некоторых способах перорального введения (например, при помощи зонда) с очень молодыми животными, маленькими по размеру работать трудно. Если же применяется метод скармливания, то для хронического опыта можно взять еще меньших животных: мыши 12—15 г, крысы 50—90 г, кошки 1000—1200 г и т. п.

Начиная длительный опыт, следует учитывать продолжительность жизни лабораторных животных (собаки 5—10 лет, кошки 10—12 лет, кролики 4—8 лет, морские свинки 6—8 лет, крысы 2—2½ года, мыши 1½—2 года). Животные считаются взрослыми, когда достигают веса: мышь 15 г, крыса 150 г, морская свинка 250 г (см. табл. 4, глава 4).

Приходится обращать внимание и на пол животных. Многочисленные исследования показывают, что у самцов и самок наблюдается различная чувствительность к действию ряда ядов. Так, например, при ежедневном введении под кожу белым мышам по 0,1—0,2 мл 30% раствора этанола на второй неделе погибло 84% подопытных самцов и только 30% самок. Но при остром отравлении большими дозами этанола какой-либо разницы в действии на самцов и самок выявить не удалось. В других случаях более чувствительными оказывались самки, например при введении им снотворных (нембутал, ректон, гексенал) в 2,5, 3,2 и 3,8 раза по сравнению с самцами. Такой же эффект был обнаружен при воздействии веществ, влияющих на окончания вегетативных нервов (адреналин, атропин, кокаин и пр.). При введении сульфата стрихнина, возбуждающего центральную нервную систему, от дозы 1,5 мг/кг погибло 68% самок при отсутствии гибели самцов. При повышении дозы в два раза гибель

самок была равна 100%, а самцов — 90% (М. П. Николаев).

Если нет особых указаний, то можно с успехом работать и на самцах, и на самках, вводя в опыт половину одних и половину других животных. При проведении некоторых методик желателен тот или иной пол животных; об этом будет указано в соответствующем месте.

Беременность и лактация самок животных в ряде случаев используются экспериментаторами для того, чтобы выявить действие малых доз токсических веществ. Но если в числе подопытных животных случайно окажутся беременные самки, то ряд показателей может оказаться непригодным, например изменения веса, биохимические сдвиги и т. п.

В какой-то мере приходится считаться и с возможностями получения животных для опытов. Опыты, требующие большого количества животных, целесообразно проводить на мелких животных (мыши, крысы, морские свинки), в опытах, где требуется немного животных, лучше использовать более крупных животных.

Маркировка животных

После подбора подопытных животных их маркируют. Собак и кошек обыкновенно не маркируют, так как вполне достаточно описания их внешнего вида, окраски шерсти. Морских свинок, имеющих разнообразную окраску, также можно иногда не маркировать, ограничиваясь зарисовкой контуров пятен с указанием их цвета. Мыши, крысы и кролики подлежат маркировке.

Применяются различные способы маркировки животных. Чаще всего производят выстригание шерсти или окраску определенных участков тела. Спиртовые растворы красок держатся более длительное время, чем водные растворы, но тем не менее при маркировке этими двумя способами требуется периодическое возобновление соответствующих меток.

Для окраски животных можно применять 0,5% раствор карболфуксина, спиртовой раствор бриллиантгрюн и т. п. Сравнительно долго держится окраска насыщенным спиртовым раствором пикриновой кислоты.

Для того чтобы отмаркировать большое количество мышей или крыс, Ш. Д. Мошковский рекомендует де-

Таблица 1

Схема маркировки животных

Схема маркировки животных																									
№ животного																									25
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Надрезы																									
Количество разрезов на левом ухе . . . Количество разрезов на правом ухе Срезан угол на ле- вом ухе Срезан угол на пра- вом ухе	1	—	2	—	1	1	2	2	—	—	—	1	—	2	—	3	—	1	2	3	3	3	—	—	—
	—	1	—	2	1	2	1	2	—	—	—	—	1	—	2	—	3	3	3	1	2	3	—	3	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

лать на теле животных десять отметок, обозначая каждую отметку буквой. Различные комбинации отметок позволяют отмаркировать значительное количество мышей. Каждое животное регистрируется комбинацией букв, согласно сделанным отметкам. Примерно такой же принцип положен в маркировку, предложенную К. Л. Ковалевским, но каждая отметка здесь обозначает цифру. Маркировка производится двумя красками — один цвет обозначает единицы, другой — десятки. Мышь регистрируется под соответствующим номером.

Одним из удобных способов маркировки мышей и крыс является нанесение определенных комбинаций полукруглых вырезов (Е. Е. Погосянц) или разрезов (В. Н. Тугаринова) на ушах животных. На одном ухе отмечаются единицы, на другом — десятки. Для вырезания употребляются особые щипцы; разрезы делают под прямым углом примерно на $\frac{2}{3}$ ширины уха. На каждом ухе можно сделать

Схема маркировки животных

Схема маркировки животных																									
№ животного	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	Надрезы																								
Количество разрезов на левом ухе . . .	1	—	2	—	1	1	2	2	—	—	—	1	—	2	—	3	—	1	2	3	3	3	3	—	—
Количество разрезов на правом ухе	—	1	—	2	1	2	1	2	—	—	—	—	1	—	2	—	3	3	3	1	2	3	—	3	—
Срезан угол на левом ухе	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
Срезан угол на правом ухе	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—

лать на теле животных десять отметок, обозначая каждую отметку буквой. Различные комбинации отметок позволяют отмаркировать значительное количество мышей. Каждое животное регистрируется комбинацией букв, согласованно сделанным отметкам. Примерно такой же принцип положен в маркировку, предложенную К. Л. Ковалевским, но каждая отметка здесь обозначает цифру. Маркировка производится двумя красками — один цвет обозначает единицы, другой — десятки. Мышь регистрируется под соответствующим номером.

Одним из удобных способов маркировки мышей и крыс является нанесение определенных комбинаций полукруглых вырезов (Е. Е. Потосянц) или разрезов (В. Н. Тугаринова) на ушах животных. На одном ухе отмечаются единицы, на другом — десятки. Для вырезания употребляются особые шипцы; разрезы делают под прямым углом примерно на $\frac{2}{3}$ ширины уха. На каждом ухе можно сделать

три вырезки или разреза. В табл. 1 приведена одна из возможных схем маркировки, основанной на этом принципе (В. Н. Тугаринова, личное сообщение).

Можно маркировать мелких грызунов, отрезая ногтевые фаланги пальцев. Этот метод часто применяется, когда требуется маркировать очень большое количество животных. В комбинации с надрезами ушных раковин срезы фаланг одной лапки служат для увеличения порядкового номера на единицы, другой — на десятки, третьей — на сотни и четвертой — на тысячи (К. Л. Ковалевский)¹.

Разрезы на ушах и срезание ногтевых фаланг животные переносят легко. Предварительно место операции протирается эфиром, а затем, по окончании ее, ранка смазывается йодной настойкой. Разрезы ушей и срезывание ногтевой фаланги производят маленькими, так называемыми глазными ножницами с острыми концами.

Кроликам надевают на ухо подвески с номером или вкалывают маленькую металлическую пластинку с номером в середину уха. Но кролики часто срывают эти метки. Иногда прибегают к клеймению животных при помощи особых щипцов (К. Л. Ковалевский и др.). Но клеймение причиняет боль животным, что может вызвать нежелательные последствия. Мы считаем более удачным делать на ушах кроликов наколки номеров при помощи иглы и черной туши. Если уколы иглой производить осторожно, прокалывая только верхний слой эпидермиса, то такая операция не вызывает особого беспокойства животных. Наколки не смываются и не стираются.

Обращение с животными; иммобилизация, фиксация

Производя различные манипуляции, с лабораторными животными следует обращаться очень бережно. В первую очередь надо их правильно брать: например, кроликов за шкурку спины, одной рукой на уровне таза, другой — на уровне плечевого пояса с захватом ушей, не позволяя животным производить резких движений, могущих привести к перелому позвоночника. Мышей удобнее всего брать за хвост при помощи пинцета. Что каса-

¹ Автор приведенной выше схемы (В. Н. Тугаринова) при количестве животных более 25 также использует подобные комбинации.

ется крыс, то за хвост корнцангом берут только взрослых агрессивных животных, молодых же крыс можно брать рукой за туловище. Ни в коем случае нельзя брать за хвост корнцангом крыс, с которыми работают по методу условных рефлексов — таким животным боли причинять нельзя.

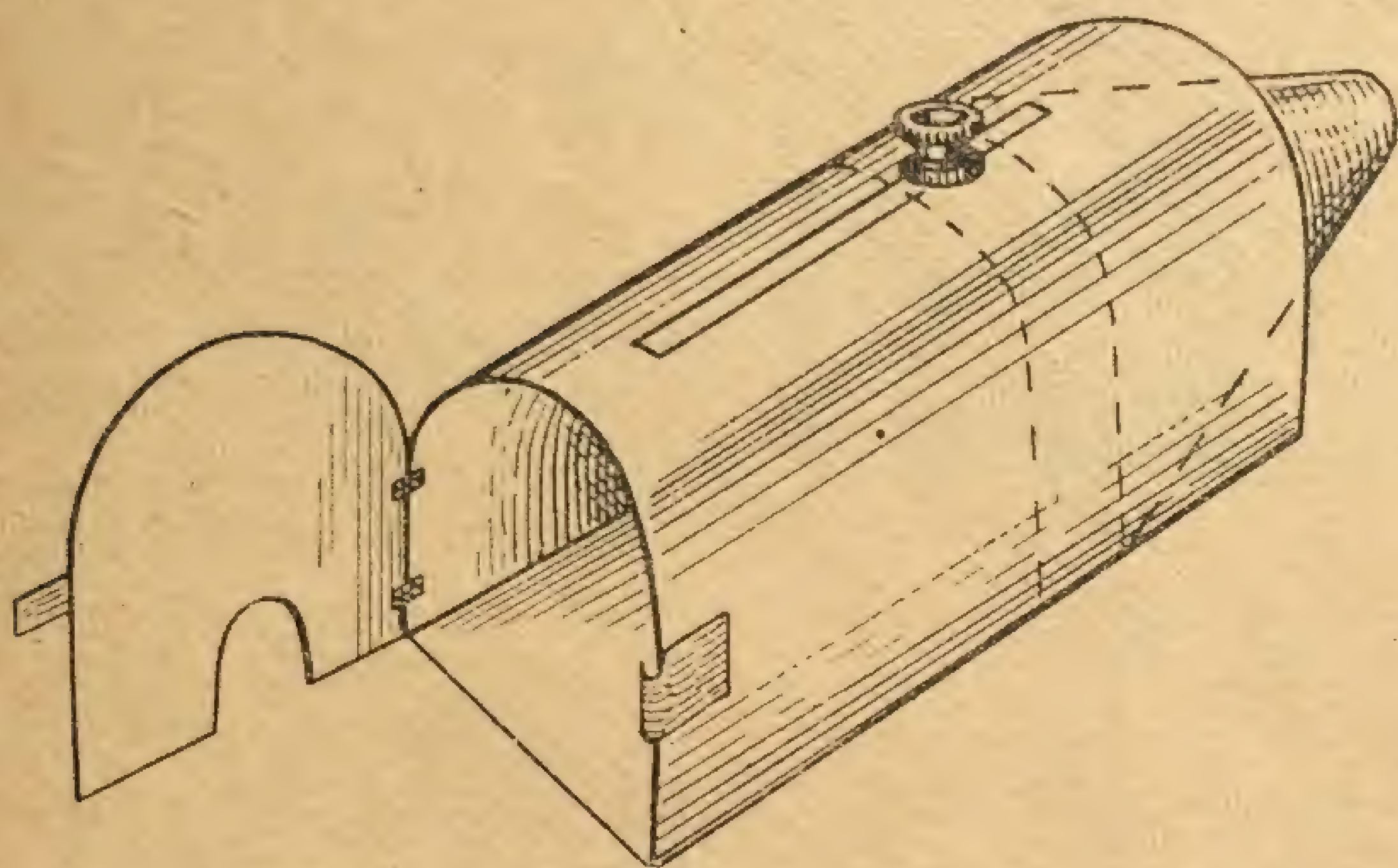


Рис. 1. Станок-фиксатор для крыс.

При ряде манипуляций требуется та или иная степень иммобилизации животных. Поскольку фиксация на станке далеко не всегда удобна, предложен ряд других методов. Например, кошек и кроликов помещают в ящик с круглым отверстием для головы. Для иммобилизации крыс наиболее широко распространена камера-фиксатор, представляющая собой прямоугольную коробку с полукруглой верхней стенкой. В боковых стенках имеются отверстия для инъекции. С одной стороны коробка заканчивается дверцей с вырезкой для хвоста. Дверца может быть сделана из двух половинок. Выдвижная планка, приделанная к полу фиксатора, позволяет фиксировать заднюю конечность крысы. С другой стороны имеется конусообразная подвижная вставка с небольшим отверстием на конце, служащим крысе для дыхания. На верхней стенке имеется прорезь, по которой движется винт с гайкой, прикрепленный к конусу. Передвигая конус и закрепляя его положение винтом, камеру можно использовать для животных разной величины (размеры: $19,5 \times 7 \times 6,5$ см; рис. 1).

Фиксатор другого вида, предложенный Н. И. Тягиным, представляет собой прямоугольную плексигласовую коробку с задней подвижной стенкой.

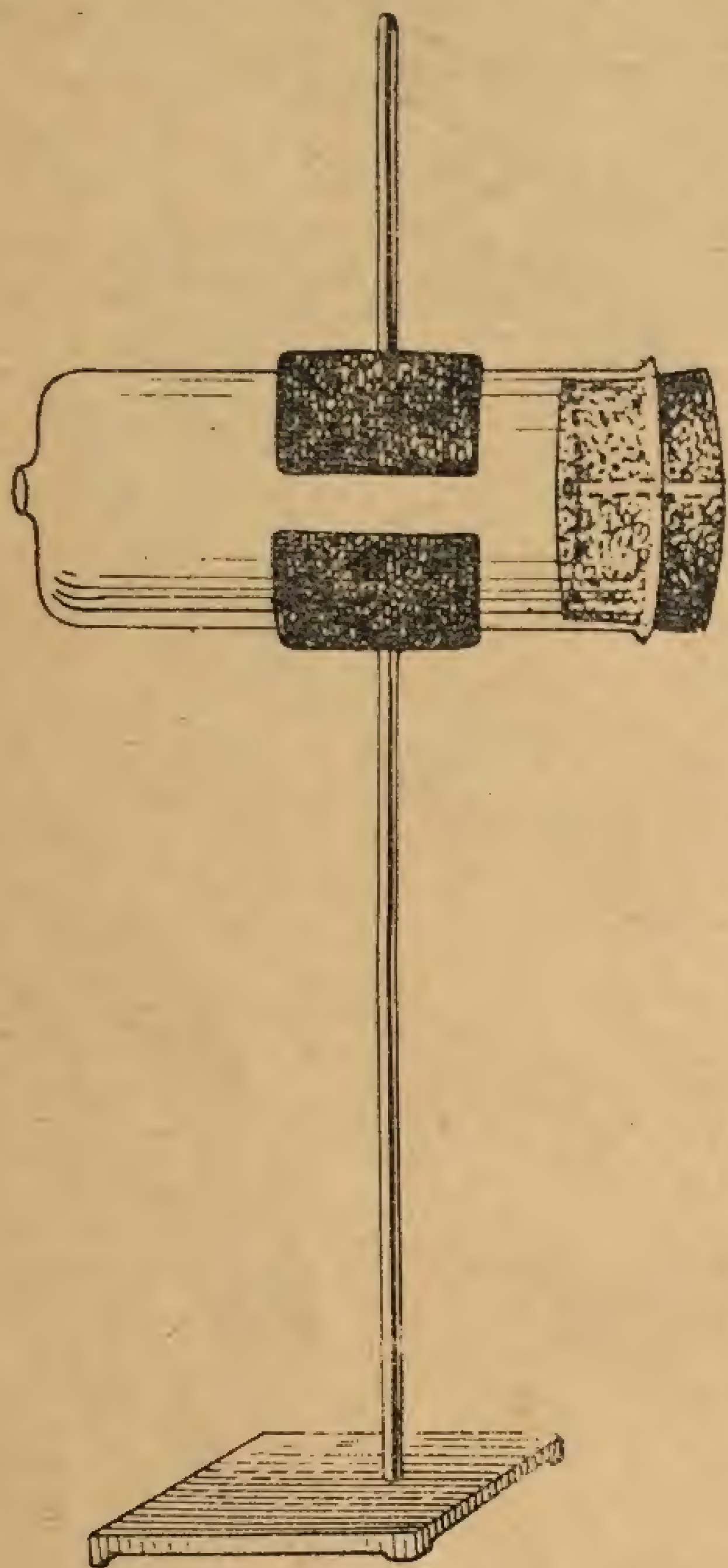


Рис. 2. Станок-пробирка для мышей.

Для фиксации мышей можно использовать короткую, но достаточно широкую пробирку с отверстием для дыхания на конце. Мышь помещают в пробирку головой к отверстию, закрывают пробирку пробкой с отверстием, через которое хвост животного выводится наружу. Разные размеры стеклянных пробирок позволяют манипулировать с мышами различной величины (рис. 2).

Удачным можно считать прием для фиксации мышей, предложенный Е. И. Балабановой. Кожу спины мыши захватывают деревянной держалкой, применяемой при кипячении жидкости в пробирках. Держалку с мышью закрепляют в штативе.

Неаккуратное, грубое обращение с животными, вызывающее у них боль, может отразиться на результатах опыта, так как боль изменяет проявления многих функ-

ций организма. Бережное, ласковое, но уверенное обращение с лабораторными животными позволит, с одной стороны, получить более достоверные результаты проводимых опытов, а с другой стороны, предохранит экспериментатора от укусов и других повреждений, наносимых в целях защиты животными, которым неумелое обращение причиняет боль.

Глава 2

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ЯДОВ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Как известно, степень токсичности химического вещества во многом зависит от условий воздействия его на организм. Одним из этих условий является путь введения яда. Пути введения яда могут быть различными — ингаляционный, пероральный, внутрибрюшинный, через кожные покровы, подкожную клетчатку, слизистые оболочки (например, глаз, гениталий и т. п.) и, наконец, непосредственно в кровь. Каждый из перечисленных путей имеет свои особенности. Быстрее и сильнее всего действие яда проявляется при введении его непосредственно в кровь; несколько слабее — при поступлении через подкожную клетчатку. Характерен пример с азотнокислым стрихнином. Введенный животному под кожу, он убивает животное в дозе 0,65 мг/кг, введенный в прямую кишку — в дозе 2 мг/кг, в желудок — в дозе 3,9 мг/кг, а стрихнин, введенный в мочевой пузырь, даже в дозе 5,6 мг/кг не вызывает гибели животного (Н. В. Попов).

В экспериментах над животными парентеральные пути введения яда используются довольно часто. Но в условиях практики токсическое вещество может попасть непосредственно в кровь или в подкожную клетчатку только в исключительных случаях. Наоборот, ингаляционный; пероральный и транскутанный пути попадания яда в организм имеют большое практическое значение, так как именно при этих путях чаще всего возможно соприкосновение с ядом.

В производственных условиях кожа тела, особенно рук, загрязняется теми или иными химическими веществ-

вами. Через неповрежденную кожу большинство растворимых в воде химических веществ не всасывается. Препятствием для их всасывания служит роговой слой эпидермиса. Но наличие в эпидермисе жиров и липонидов ведет к тому, что яды, растворяющиеся в жирах и липоидах, и, наоборот, яды, растворяющие эти вещества, могут проникнуть через эпидермис (например, тетраэтилсвинец, анилин, нитробензол и пр.).

Ингаляционный путь поступления имеет большое значение, так как в воздух попадают различные ядовитые вещества в газообразном, парообразном, туманообразном виде, а также в виде пыли. Благодаря большой всасывающей поверхности легких и тесному соприкосновению воздушной среды с кровью ядовитое вещество может легко туда попасть и оказать резорбтивное действие. Этот путь проникновения ядов чаще встречается в условиях производства, почему изучение действия ядов при нем наиболее подробно производится в промышленной токсикологии.

Другой важный путь поступления в условиях практики — это пероральный путь. В желудок яды могут попасть и из воздуха (растворение ядов в слюне, заглатывание токсических веществ в нерастворенном состоянии, например в виде пыли), из верхних дыхательных путей или при вдыхании загрязненного воздуха ртом. Например, у рабочих, соприкасающихся с тринитротолуолом, через пищеварительный тракт в сутки поступает до 2—2,5 мг этого вещества (Л. К. Хоцянов).

Для некоторых веществ единственным путем поступления в организм является желудочно-кишечный тракт, например швейнфуртская зелень. Как известно, это вещество обладает выраженной токсичностью (Н. С. Правдин).

Если токсическое вещество является жидкостью, то возможно всасывание ртом с последующим заглатыванием яда при работе с пипетками, сифонами и т. п. Еда и курение в производственных помещениях могут послужить причиной попадания в организм промышленных ядов.

Химические вещества вводятся перорально также в случаях загрязнения ими пищевых продуктов или воды. Особенно большое значение приобретает загрязнение воды. В связи с бурным развитием промышленности сточ-

ные воды различных производств, сбрасываемые в водоемы, загрязняют их различными химическими веществами, что в конечном счете может отразиться на состоянии здоровья населения, пользующегося этими водоемами.

Большое внимание уделяется пероральному пути введения и в экспериментальных работах по токсикологии. При исследовании жидких химических веществ степень их токсичности определяется введением в желудок.

Как уже было сказано выше, скорость всасывания при различных способах введения химического вещества различна. Описаны следующие соотношения скоростей всасывания: если за 1 принять скорость всасывания при пероральном введении, то при подкожном введении она будет равна 2, а при внутривенном введении — 20. Но это соотношение нельзя распространять на все химические вещества. У некоторых ядов соотношения всасывания при различных путях введения могут быть иными. Например, при введении веронала как перорально, так и подкожно скорость всасывания одинакова (Э. Штаркенштейн).

Различной может быть и клиническая картина отравления при действии яда, поступающего в организм различными путями.

Ряд химических веществ как при ингаляционном, так и при пероральном способе введения вызывает одну и ту же клиническую картину отравления (например, тетраэтилсвинец, синильная кислота и др.). Другие яды вызывают различные симптомы и исход отравления в зависимости от пути их введения. В качестве примера приводим определение токсичности тетранитрометана при различных путях введения. Тетранитрометан — летучая жидкость. При поступлении через дыхательные пути в виде паров он является высокотоксичным, сильно раздражает слизистые оболочки верхних дыхательных путей, а при повышении концентрации вызывает отек легких. Концентрация 0,08 мг/л при 20-минутной экспозиции является смертельной для животных (кошек) (Ф. Флюри и Ф. Церник). При введении тетранитрометана перорально в водном растворе оказалось, что только дозы 20—25 мг/кг вызывали у подопытных кроликов изменения со стороны крови, окислительных процессов и гли-

когенообразовательной функции печени. Дозы тетранитрометана 0,15—0,3 мг/кг у собак и кроликов никаких изменений не вызывали (О. Н. Елизарова и соавторы). Несмотря на недопустимость игнорирования при интерпретации описанных данных видовых различий в чувствительности животных к отравлению тетранитрометаном, наблюдавшаяся разница в действии препарата была слишком показательна, чтобы объяснять ее только с этой точки зрения, и несомненно иллюстрирует также значение пути проникновения токсического вещества в организм.

Другим примером может служить характер токсического действия нитрила акриловой кислоты при пероральном и ингаляционном пути введения (Н. А. Забежинская и Р. Л. Шур). Проводились шестимесячные опыты с изучением у подопытных животных (белые крысы) изменений условнорефлекторной деятельности под влиянием указанного вещества. При пероральном введении доза 1 мг/кг вызывала нерезко выраженные изменения условнорефлекторной деятельности. Введение дозы 0,1 мг/кг не приводило к каким-либо отклонениям от нормы. При ингаляционном воздействии концентрации 0,01 мг/л (ежедневная двухчасовая экспозиция) наблюдались нарушения условнорефлекторной деятельности. Если предположить, что нитрил акриловой кислоты всасывался из легких в организм целиком, то и тогда в организм крысы могло бы попасть 0,08—0,1 мг вещества, что в пересчете составляет 0,3—0,4 мг/кг. Это значительно ниже количества, вызвавшего изменения условнорефлекторной деятельности при пероральном введении.

Действие нитрила акриловой кислоты при обоих путях введения заключалось в ослаблении процесса возбуждения, дифференцировочное торможение более сильно страдало при ингаляционном пути введения.

Приведенный пример показывает, что при ингаляционном введении действие нитрила акриловой кислоты на условнорефлекторную деятельность подопытных животных оказалось более выраженным. Характер изменений условнорефлекторной деятельности в общем был схож, но отмечалась разница в состоянии дифференцировочного торможения.

Каковы же особенности действия ядов при пероральном пути введения?

Анатомическое строение пищеварительного тракта довольно сложно. Различные части этого тракта имеют свою иннервацию, свои особенности в строении. Поэтому всасывание ядовитых веществ в большинстве случаев носит избирательный характер и вещества, даже близкие друг к другу по составу, всасываются неодинаково. Так, ортокрезилфосфат всасывается хорошо, а близкие к нему мета- и параизомер почти не всасываются (Б. Гросс и А. Гросс (B. Gross и A. Gross)). Липодорастворимые вещества обычно всасываются хорошо (Н. В. Лазарев).

Проходя через пищеварительный тракт, химическое вещество встречается с особой, различной в отдельных отрезках, биохимической средой, богатой ферментами. Эта среда может в некоторых случаях повысить токсичность вещества.

Наличие кислой среды в желудке и щелочной в кишечнике влияет на всасывание химических веществ. Вещества, не растворяющиеся в кислой среде, могут проходить, не всосавшись, через желудок, а распадаясь в щелочной среде кишечника, всасываются там. Классическим примером такого явления служит салол, который проходит через желудок не изменяясь, а в щелочной среде кишечника распадается на салициловую кислоту и фенол, которые легко всасываются.

Многие яды в желудочном соке растворяются лучше, чем в воде. В связи с увеличением их растворимости увеличивается и всасывание их. Так, малорастворимые в воде соли свинца гораздо лучше растворяются в желудочном соке [А. Карлсон и Вельфель (A. Carlson a. Woelfel)]. Тринитротолуол мало растворим в воде, хорошо растворяется в желудочном соке (Е. И. Веллинг).

С другой стороны, имеется достаточно примеров, когда химическое вещество, попав в желудок, или полностью теряет свою токсичность, или последняя значительно уменьшается. Яркими примерами служат кураре, бактериальные токсины (например, яд тетануса), яд змей и насекомых (Н. П. Кравков), которые при приеме внутрь теряют свою токсичность.

Быстрота и сила действия токсического вещества, попавшего в желудок, во многом зависит от степени наполнения желудка пищевой кашицей и от характера ее. Ядовитые вещества в пустом желудке сразу вступают в непосредственный контакт со слизистой, почему всасы-

ваются быстрее, чем в желудке, наполненном пищей. Примером этого служит более быстрая реакция организма на спиртовой раствор, выпитый на голодный желудок, по сравнению с приемом спирта после наполнения желудка пищей. О влиянии характера содержимого желудка может говорить также пример с солями тяжелых металлов. В случаях присутствия в пищевой кашеце большого количества белков соли тяжелых металлов дают осадки альбуминатов, мало растворимые и, следовательно, плохо всасываемые (Н. П. Кравков).

На быстроту и силу действия токсических веществ могут заметно влиять различные изменения внешних условий, отражающихся на процессах всасывания в желудочно-кишечном тракте. Так, при резком повышении температуры воздуха, если организм сильно обедневает водой, быстрота всасывания ряда растворов значительно увеличивается.

Очень большое значение имеет и состояние нервной системы. Известно, что при некоторых заболеваниях центральной нервной системы всасывание как в желудке, так и в кишечнике резко ухудшается.

Вся внутренняя поверхность желудочно-кишечного тракта, богато снабженная чувствительными рецепторами, является рефлексогенной зоной. Здесь при соприкосновении с элементами внешней среды, в частности с химическими веществами, возникают рефлекс, которые отражаются на всех без исключения функциях организма. Особенно ярко этот рефлекторный эффект выступает при действии малых количеств химических веществ, влияющих на чувствительные рецепторные окончания нервов, но не вызывающих грубых деструктивных процессов. Этот вопрос подробно освещен проф. С. В. Аничковым. Токсические химические вещества могут быть отнесены, по терминологии И. П. Павлова, к «отвергаемым» раздражителям. Эти «отвергаемые» раздражители производят своеобразное действие на организм.

Действие их на желудочную секрецию в зависимости от силы и характера раздражителя выражается в усилении или уменьшении секреторной реакции на последующее пищевое раздражение. Если эти раздражители даже не вызывают рефлекторной секреции желудочного сока, то, автоматически влияя на возбудимость пищевых

центров, они могут существенно изменять пищеварительную функцию.

Ядовитые вещества, попадая в кровеносные сосуды, воздействуют на сосудистые рецепторы. Как показал в своих работах А. Г. Бухтияров, рецепторы различных сосудов при введении одного и того же вещества дают различные рефлекторные ответы. В частности, химические вещества, введенные в систему малого круга кровообращения, сосуды которого имеют бульбарную иннервацию, могут вызвать качественно противоположную реакцию по сравнению с тем же веществом, введенным в портальную систему, сосуды которой имеют спинальную иннервацию. Таким образом, при пероральном введении, когда яды попадают в портальную систему, эффект их действия может быть другим, нежели при ингаляционном поступлении, отчасти и по этой причине.

Из желудочно-кишечного тракта токсическое вещество распространяется по всему организму двумя путями: по лимфатическим сосудам и по кровеносным сосудам. Из кровеносных сосудов токсическое вещество попадает в портальную систему и проходит через печень. Печень играет важную роль в обезвреживании и задержке ядов, поступающих в нее с кровью. В печени происходят процессы окисления и синтеза, в результате которых осуществляется антитоксическая, барьерная роль печени. Примером такой роли может служить отложение в печени различных тяжелых металлов (медь, цинк, железо, ртуть и т. п.) (Н. П. Кравков). Обезвреживание многих промышленных ядов также происходит в печени.

О барьерной роли печени говорит тот факт, что некоторые яды (морфий, наркотики, некоторые тяжелые металлы) действуют сильнее, если поступают через прямую кишку. В последнем случае эти вещества после всасывания переносятся через геморроидальное сплетение непосредственно в большой круг кровообращения, минуя обезвреживающее и ослабляющее действие печени (Э. Штаркенштейн).

Обезвреживающая функция печени хорошо изучена, поэтому мы сочли возможным в данной книге привести только единичные примеры.

Все указанное обуславливает разницу в действии некоторых ядов при вдыхании и при пероральном введении.

Приведенный материал показывает, что особенности

перорального пути введения ядовитых веществ необходимо учитывать и изучать. Эти данные иллюстрируют необходимость проведения специальных исследований для определения пороговых доз ядов в условиях их поступления в организм через пищеварительный тракт.

ФОРМЫ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Пероральное введение токсических веществ может осуществляться: а) в их чистом виде (*per se*); б) в растворе; в) с пищей.

Каждая из этих форм имеет свои преимущества и свои недостатки, которые должны учитываться в свете конкретных условий и целей опыта.

Введение токсических веществ в их чистом виде

При введении токсического вещества в их чистом виде имеется уверенность, что получаемый эффект не зависит от какого-либо побочного влияния со стороны растворителя. Имеется возможность более точно дозировать вводимое вещество. Но при введении малых количеств токсических веществ или в тех случаях, когда вещество обладает раздражающим действием, встречаются затруднения.

Введение токсических веществ в растворах

При введении токсических веществ животным к растворителям приходится прибегать в ряде случаев, например, если нужно ввести весьма малое количество вещества (0,01 мл и меньше) или если вещество обладает резким раздражающим действием и надо это действие сгладить, чтобы выявить характерное действие вещества на весь организм, а не только на слизистую желудка. Тягучие смолообразные жидкости вводить трудно. Рекомендуется вводить их в форме водного или масляного раствора, а жидкости, нерастворимые в воде или масле, в виде эмульсий. В виде эмульсий вводятся и твердые вещества.

Простейшим эмульгатором может служить 1—2% раствор крахмала.

Для создания стойких эмульсий применяют эмульгаторы ОП 7 или ОП 10. Сами по себе эти вещества не

обладают токсичностью. Эмульгатор смешивают с исследуемым веществом в определенных соотношениях (1 : 1, 1 : 5, 1 : 10). Это соотношение зависит от химических свойств исследуемого вещества и определяется экспериментальным путем. Затем к смеси прибавляют по каплям воду, энергично растирая полученную массу. Постепенно эмульсия делается все более жидкой. Количество прибавленной воды должно быть учтено, чтобы точно рассчитать вводимую животному дозу вещества.

Следует учитывать, что применение растворителя может изменить скорость и силу действия яда. Чем концентрированнее раствор, тем в большем количестве он всасывается и проявляет большую токсичность. Наоборот, вещества, всасываясь в более разведенном виде, успевают подвергаться обезвреживанию со стороны организма. Например, 100 мл алкоголя, принятого в слабом (4—5%) растворе (пиво), вызывает явления только легкого опьянения, а при приеме такого же количества алкоголя, но в 30—40% растворе, опьянение делается явно заметным (Н. В. Попов).

Растворитель может сам действовать токсически на организм, а также влиять на действие исследуемого вещества, ускоряя или замедляя его всасывание. Учитывая это, следует очень внимательно относиться к подбору растворителя. Лучше всего, если в качестве растворителя можно использовать воду, так как она сама по себе не вызывает какого-либо токсического действия и всасывание при этом не нарушается. В качестве растворителей применяют также растительное масло (прованское, подсолнечное и т. п.).

Большое значение имеет количество вводимого растворителя. Даже вода, наиболее индифферентный раздражитель, при введении в больших количествах вызывает нарушения функций желудочно-кишечного тракта, о чем говорилось выше. Более резко это действие проявляется при введении масла. Большие количества масла могут не всосаться, а быть эвакуированными через кишечник. Поэтому желательно разводить испытуемое вещество в возможно меньшем количестве масла. Растительное масло само по себе неплохо всасывается в кишечнике, но что касается всасывания введенного вместе с ним яда, то оно может быть различным. Введение жиров с одними ядами (алкоголь, амиленгидрат, параль-

дегид и пр.) ослабляет отравление ими, а с другими, наоборот, усиливает. Предвидеть получаемый эффект заранее нельзя (Н. В. Лазарев). Этанол, применяемый в качестве растворителя, удобен тем, что в нем растворяются многие химические вещества. Но вводить спирт можно в сравнительно небольших количествах, так как он сам обладает вредным действием и, кроме того, влияние его на центральную нервную систему может изменить токсический эффект вещества, растворенного в нем. Спиртовые растворы различных ядов всасываются в желудке быстрее, чем растворы водные и особенно масляные.

СПОСОБЫ ПЕРОРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Пероральное введение химических веществ животным может производиться путем определенных манипуляций (через шприц, зонд) или посредством добавления препарата в дневной рацион корма или питьевой воды. При выборе способа введения учитывают физико-химические свойства изучаемых веществ. Так, твердые (порошкообразные) вещества вводить труднее и способы введения при этом ограничены. Жидкие вещества вводить легче, выбор способов для них достаточно велик. Но если жидкость является летучей, то нельзя применять такие способы, при которых химическое вещество попадает в организм не сразу, например с питьевой водой или с пищей. Тягучие жидкости в большом количестве остаются на стенках измерительных приборов (пипетки, мензурки и т. п.), поэтому с помощью этих приборов дозировать такие яды трудно. Приходится вести расчет из количества капель внесенного вещества, исходя из веса одной капли, предварительно взвешенной. Понятно, что величина капель должна быть одинаковой. Для этого следует работать всегда с одним и тем же прибором при одинаковой температуре.

Искусственное введение изучаемых веществ рекомендуется производить животным натошак, так как в желудок, наполненный пищей, трудно ввести более или менее значительный объем вещества (или раствора). Кроме того, как указано выше, пищевая кашица, находящаяся в желудке, может изменить условия всасывания, а отсюда и характер действия изучаемого вещества.

Введение токсического вещества в ротовую полость

При внесении жидкого химического вещества в ротовую полость применяют различные приборы, например шприц, пипетки, капельницы и т. п. Стеклянные приспособления опасны тем, что кончик может легко отколоться, приводя к нежелательным последствиям.

Подопытным животным придают требуемое положение. Мышей фиксируют в левой руке: большим и указательным пальцем берут животное за шкурку на затылке между ушей (это заставляет мышью раскрыть рот), безымянным же пальцем и мизинцем придерживают животное за хвост.

Крысу фиксируют, завертывая ее в тряпку, так, что свободной остается одна голова.левой рукой захватывают шкурку на затылке животного так же, как у мышей. Если крыса хорошо фиксирована и небольшая по размеру, то экспериментатор может обойтись без помощника. Но если животное крупное и агрессивное, то крысу приходится держать помощнику.

Кроликам удобнее вводить вещество, перевернув животное на спину. Для этого нужен помощник, который, захватив кролика за передние и задние лапки, переворачивает его на спину. Экспериментатор, нажимая двумя пальцами на кожу боковых поверхностей мордочки кролика около ротового отверстия, заставляет животное открыть рот и вводит в ротовую полость сбоку (за передними зубами) конец пипетки, капельницы, наконечника шприца и т. п.

Кошек приходится очень хорошо фиксировать, завернув в большую тряпку или крепко удерживая за шкуру в области плечевого и тазового пояса. Для того чтобы избежать царапин, желательно во всех случаях работы с кошками предварительно надевать им на лапы мешочки, сшитые из толстой материи или мягкой кожи, затягивая отверстие мешочков выше сустава. Можно также забинтовать каждую лапку в отдельности. Это не позволяет кошкам выпускать когти.

Собак чаще ставят в обычный станок, а затем вводят пипетку или другое приспособление (конец груши и т. п.) в рот, сбоку, между передними и боковыми зубами. Существуют и специальные приборы для дозированного введения жидкостей собакам.

Количество жидкости, которое можно ввести в рот животным, зависит от величины животного: мышам — 2—3 капли, крысам — немного больше. Кроликам удается вводить до 10—12 мл жидкости, вводя ее постепенно в течение нескольких минут. Кошкам такое количество ввести труднее из-за агрессивности животного. Собакам можно вводить сравнительно большое количество жидкости, особенно если заранее приучить к этому животное.

Твердые химические вещества в порошкообразном виде также можно в небольшом количестве вводить непосредственно в рот с расчетом, что животное проглотит введенное вещество. Некоторые химические вещества могут всасываться непосредственно в ротовой полости.

Небольшие количества порошкообразного вещества высыпают в рот подопытным животным или, оттянув кожу в области щеки, вносят вещество на тонком шпатель в защечную область. Чем меньше размеры животного, тем меньшее количество удается ему ввести.

В ротовую полость можно вводить химическое вещество при отсутствии у него выраженного раздражающего действия. Ротовая полость и язык богато снабжены рецепторами, поэтому действие химического вещества, резко раздражающего, не только вызывает бурную оборонительную реакцию со стороны животного, но и рефлекторно отражается на функциях всего организма.

У кошек и собак возникает еще одно затруднение в случаях применения веществ, раздражающих слизистые оболочки. Известно, что слюнные железы очень тонко реагируют на введение любого вещества в рот, отвечая изменением количества слюны и ее состава. При попадании в рот раздражающих («отвергаемых», по классификации И. П. Павлова) веществ выделяется большое количество жидкой слюны, что способствует более быстрому удалению вредоносного агента. Приведем в качестве примера собственные данные об изменении количества слюны у собак с выведенным протоком слюнной железы, которым орошали ротовую полость спиртовыми растворами различной концентрации (см. табл. 2).

У собаки по кличке Джой был выведен проток околоушной железы, а у собаки по кличке Черныш — подглазничной. Несмотря на то что качество слюны, выделяемой этими железами, различное (в слюне подглазничной железы много слизи, а в слюне околоушной железы

Таблица 2

Количество слюны, выделившейся после орошения
ротовой полости собак спиртовыми растворами
различной концентрации

Кличка собаки	Количество слюны в мл за 14 минут после орошений				
	водой	спиртовыми растворами в концентрации			
		1 %	5 %	10 %	20 %
Джой	0,4	0,5	0,7	0,6	2,5
Джой	0,7		0,8	1,2	2,2
Черныш	0,7		1,3	2,1	3,7

таковой почти нет), результаты получились примерно одинаковыми — чем выше была концентрация спиртового раствора, тем больше выделялось слюны (О. Н. Елизарова).

Введение токсических веществ непосредственно в желудок

Непосредственно в желудок можно вводить жидкие токсические вещества. Что касается тягучих, смолообразных жидкостей, а также порошкообразных веществ, то введение их непосредственно в желудок затруднительно.

Введение в желудок производится при помощи различных зондов — металлических, стеклянных или резиновых.

При введении зонда нельзя прибегать ни к малейшему насилью: металлическим зондом можно проколоть пищевод и попасть в грудную полость. Даже резиновый зонд может поранить глотку, пищевод или стенки желудка.

Для мышей и крыс чаще употребляют металлические или стеклянные зонды, для более крупных животных — резиновые (рис. 3).

При введении исследуемого вещества в желудок мышам в качестве зонда служит толстая сточенная на кон-це игла от шприца. Удобны чуть изогнутые сточенные иглы с небольшим утолщением на конце (Ф. Р. Окишев). Можно применять также стеклянные зонды с небольшим утолщением посередине, не позволяющим вводимой жид-

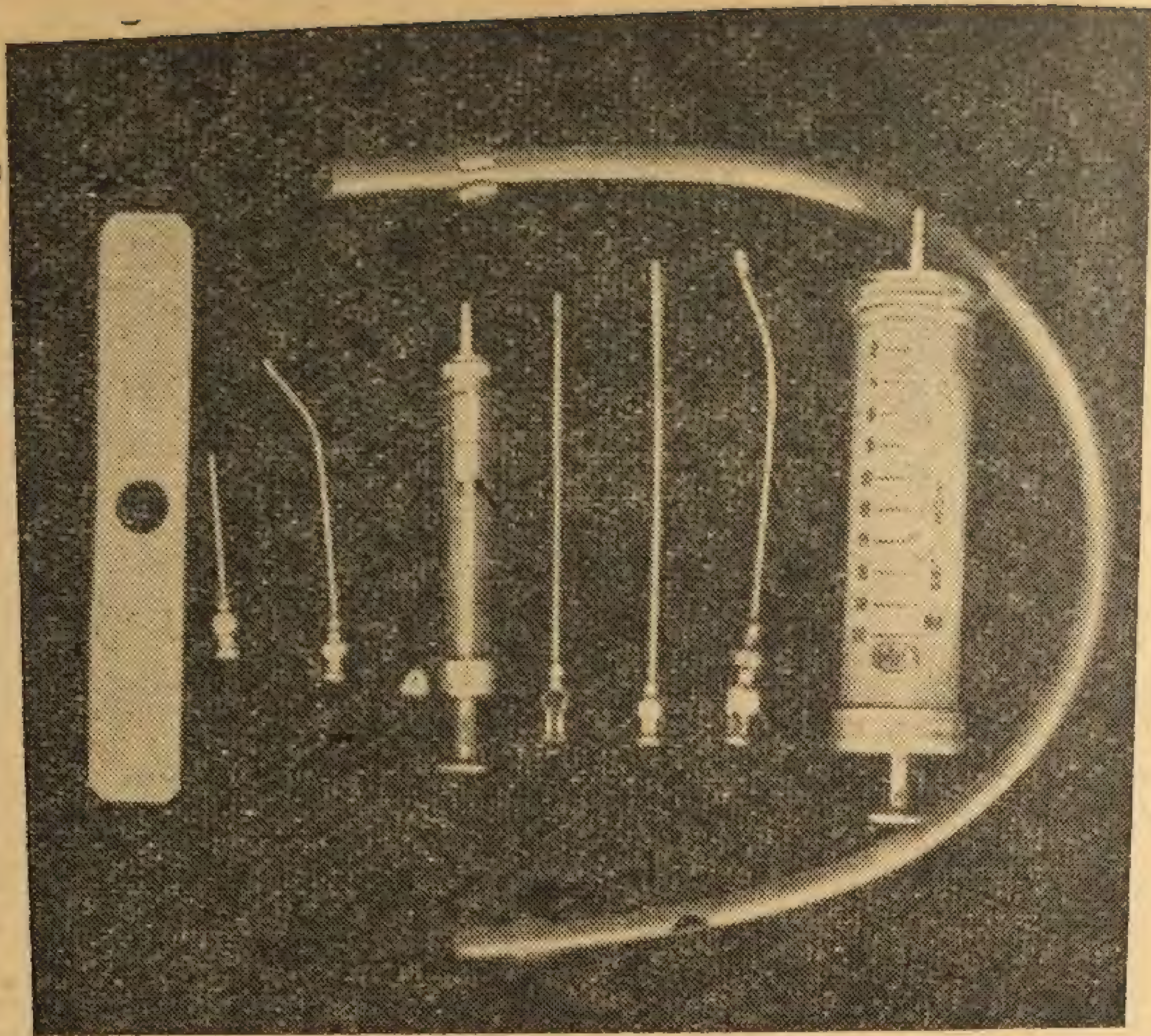


Рис. 3. Набор шприцев и зондов для введения жидкости в желудок мелким лабораторным животным (слева — роторасширитель).

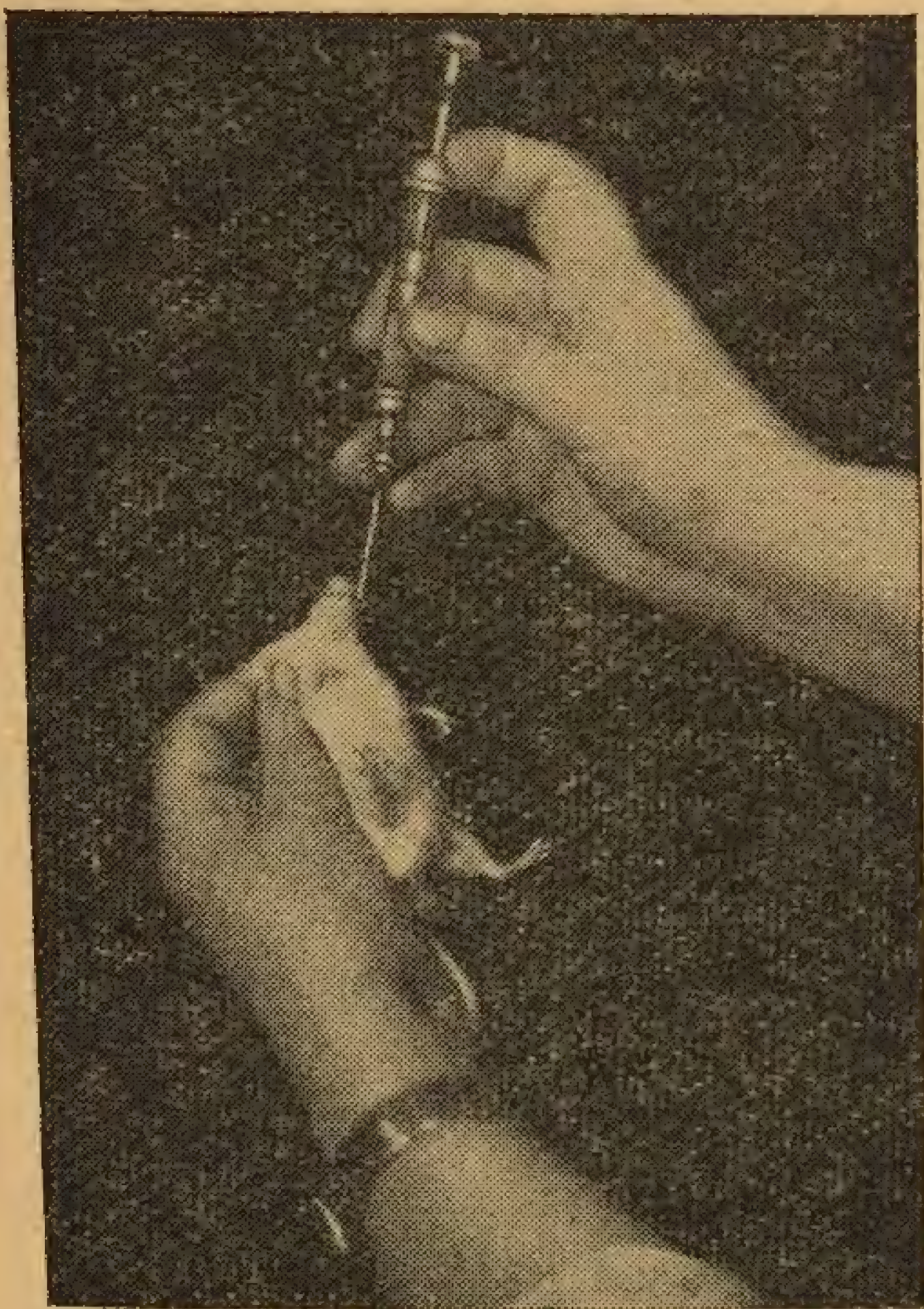


Рис. 4. Введение жидкости в желудок мышам при помощи зонда.

кости подниматься вверх по пищеводу. Мышь фиксируют в левой руке, как было указано выше. Животное лучше держать вертикально. Тогда, если зонд введен правильно, он сам легко соскальзывает в желудок. Зонд вводят в ротовую полость до задней стенки глотки, а затем конец зонда поворачивают вниз. Зонд у мышей обычно достигает желудка при введении его на 2—2½ см (рис. 4).

Для введения вещества в желудок крысам также может быть применен стеклянный зонд (утолщенная посередине и несколько изогнутая трубочка больших размеров, чем для мышей), но чаще употребляют метал-

личный зонд, немного изогнутый у конца, снабженный небольшой оливой. Зонд можно сделать из большой и толстой инъекционной иглы (рис. 5).

Крысу фиксируют, завертывая в тряпку, как указано выше. Зонд вводят также сначала гори-

зонтально до задней стенки ротовой полости, а затем поворачивают вниз. В случаях, если крысы очень крупные и агрессивные, зонд можно вводить другим методом. Помощник захватывает корнцангом, который держит в правой руке, кожу крысы на затылке между ушами, левой рукой берет за хвост и переворачивает животное на спину, растягивая его на столе, после чего экспериментатор вводит зонд. В зависимости от величины крыс зонд вводят в пищевод на глубину 3—4 см. Желательно предварительно проверить, как глубоко следует вводить зонд. Для этого, отогнув голову животного так, чтобы получилась прямая линия, прикладывают зонд к телу животного и отмечают, на какую длину зонд должен быть введен, чтобы достигнуть желудка. Такую проверку делают не только при работе с крысами, но и со всеми другими животными.

У более крупных животных (кроликов, кошек, собак), для того, чтобы удержать рот в открытом виде, применяется роторасширитель. Роторасширитель представляет собой деревянную (фанерную) или металлическую пластинку. Размеры для кроликов и кошек—длина 12—13 см, высота 2 см, толщина 0,5—0,75 см. Для средних по величине собак размеры роторасширителя больше—длина 15—17 см, высота 3,5—5 см, толщина 2—3 см. Размеры

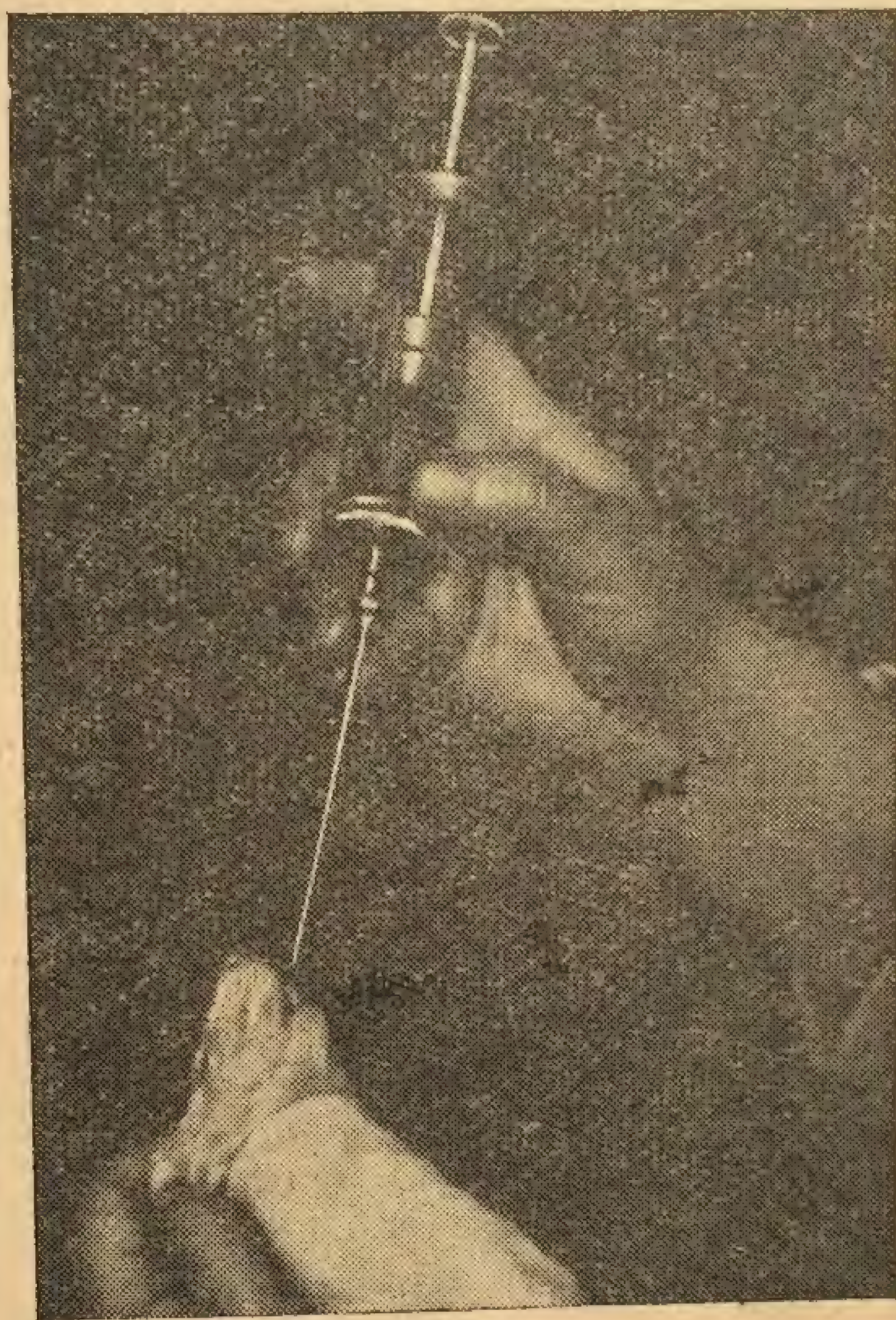


Рис. 5. Введение жидкости в желудок крысам при помощи зонда.

роторасширителя для собак зависят от величины собаки. В середине роторасширителя имеется отверстие, куда и пропускается зонд.

Для введения жидкости в желудок кроликам и кошкам удобно применять катетеры с диаметром от 0,6 до 0,7 см, длиной в 30 см. Желательно подобрать более упругую резину, так как чересчур мягкая резина сминается и с трудом проходит в пищевод. Более широкие катетеры годятся для крупных кроликов, а для меньших лучше брать более тонкие катетеры. Вместо катетера можно употреблять тонкую резиновую трубку с тщательно закругленным концом. Кролика привязывают на обычную доску для экспериментальных животных. Доске придают вертикальное положение, например ставят передние ножки доски на спинку стула. Помощник вставляет в рот кролика сзади передних зубов роторасширитель так, чтобы срединное отверстие находилось напротив входа в пищевод. Помощник должен все время хорошо фиксировать голову кролика и концы роторасширителя. Резиновый зонд, не защищенный роторасширителем, кролик перегрызает моментально. Чтобы легче было вводить зонд, экспериментатор левой рукой берет за мордочку кролика так, чтобы подложенным под нижнюю челюсть третьим пальцем выдвинуть ее немного вперед. Зонд, предварительно смоченный водой, вводят кролику примерно на 27—28 см (рис. 6). Так как кролики могут быть разной величины, то и здесь желательно предварительно измерить, на сколько надо вводить зонд, чтобы достичь желудка. Если соблюдены все правила, обычно зонд вводится совершенно свободно. Только иногда возникают затруднения при введении. Так, у кролика может быть спазм пищевода, почему зонд не проходит по пищеводу. В таких случаях нельзя проталкивать зонд силой. Следует вынуть зонд и роторасширитель и дать отдохнуть кролику несколько минут, после чего зонд вводится обычно свободно. Можно вводить зонд вместе с водой. Для этого заполняют зонд водой, зажимают его верхний конец и начинают введение. Дойдя до конца ротовой полости, немного разжимают зонд, позволяя воде вытекать. Это заставляет кролика делать глотательное движение, и зонд легко проходит по пищеводу в желудок.

Перед тем как вводить исследуемое вещество, необходимо проверить, правильно ли введен зонд.

Для этого рекомендуют несколько способов. Например: надев на конец зонда воронку, налить в нее немного воды и посмотреть, — не появятся ли пузырьки воздуха. Или зажать конец зонда и понаблюдать за дыханием животного. Но оба эти приема иногда оказываются недостаточно точными. Так, пузырьки воздуха в воронке мо-

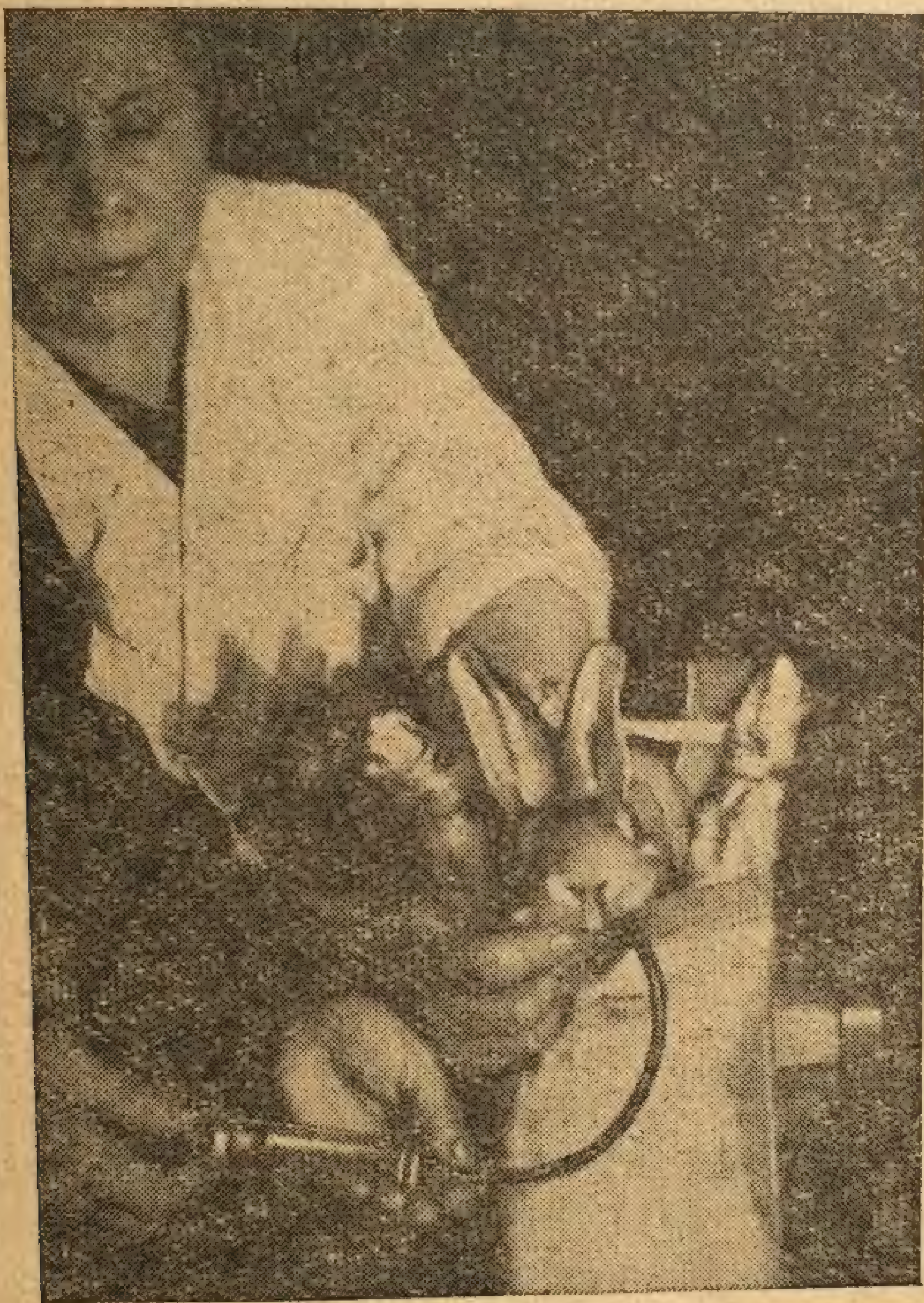


Рис. 6. Введение жидкости в желудок кроликам при помощи зонда.

гут появиться из желудка при движениях животного. Если катетер не выполняет полностью все пространство трахеи, то дыхание будет совершаться и при введенном в трахею катетере. Мы считаем более действенным следующим способ. После введения зонда экспериментатор приближает к концу его (примерно на расстоянии 2 см) свою руку, слегка увлажненную водой. Ощущение похолодания того места кожи, которое находится напротив отверстия зонда, говорит за то, что из конца зонда выхо-

дит воздух, а отсюда, — что зонд находится не в желудке, а в трахее.

Для введения химических жидких веществ кошкам применяются такие же резиновые зонды, как у кроликов. Кошку завертывают в большую тряпку так, чтобы она не могла освободить лап. Так как кошки обычно оказывают сильное сопротивление, держать их надо помощнику очень крепко, а роторасширитель приходится держать другому помощнику. При попытке осуществить зондирование животные обычно громко мяукают. Это облегчает попадание зонда в дыхательные пути. Так как трахея кошки довольно широка, введение туда зонда часто не сопровождается явлениями удушья. При работе на кошках особенно внимательно надо проверять правильность положения зонда, убеждаясь, что из отверстия вставленного зонда воздух не выходит. Следует отметить, что небольшое количество жидкости может войти в дыхательные пути беспрепятственно.

Для того чтобы ввести зонд собакам, в пасть за клыки им вставляют роторасширитель, затем приподнимают морду животного так, чтобы пищевод и полость рта представляли прямую линию. Вся эта процедура может производиться только при спокойном состоянии животного, поэтому собак к ней следует заранее приучать, не прибегая к насилию. Тогда процедура совершается сравнительно легко. Зонд должен вводиться на такую глубину, чтобы достигнуть желудка, поэтому предварительно надо измерить приблизительно расстояние от начала полости рта до желудка и сделать на зонде отметку. Диаметр желудочного зонда подбирают в зависимости от величины животного. Количество вливаемой жидкости (от 50 до 800 мл) должно согласоваться с величиной животного. Однако следует учитывать, что быстрое введение большого количества жидкости может вызвать рвоту (Л. Л. Васильев, И. А. Ветюков). Максимальное количество жидкости, которое можно ввести голодным животным за один прием, отвечает вместимости желудка, что в свою очередь зависит от величины животного.

Следует отметить, что очень молодые животные с малым весом плохо переносят введение зонда. Чрезмерное переполнение желудка может вызвать у них рефлекторную остановку дыхания. В таких случаях следует делать искусственное дыхание, ритмически, но не сильно сжимая

грудь
сдав
не в
У
меня
честв
могу
Так,
то у
стоя
обыч
гих
энтер
доть
С
дает
рант
коли

Таблица 3

Максимальное количество жидкости,
вводимое за один прием (по литературным
данным и собственным наблюдениям)

Наименование животного	Вес в граммах	Количество жид- кости в мл
Мышь	30 и выше	1
	25—30	0,8
	20—25	0,5
Крыса	300 и выше	8
	250—300	6
	200—250	4—5
	100—190	3
Морские свинки	300 и выше	6
	250—290	4—5
Кролики	3500 и выше	200
	2500—3400	150
	2000—2400	100
Кошки	3000 и выше	100—150
	2500—300	50—80
Собаки	В зависимости от величины	от 50 до 500— 800 мл

грудную клетку животного. Необходимо остерегаться сдавливать область желудка, чтобы введенная жидкость не вылилась и не попала бы в дыхательные пути.

Указанные максимальные количества возможно при-
менять при однократном введении. Но если такие коли-
чества вводить в течение нескольких дней подряд, то
могут нарушиться функции желудочно-кишечного тракта.
Так, если мышам вводилось 10 дней подряд по 1 мл воды,
то у животных наблюдались некоторые нарушения в со-
стоянии организма — прибавка веса была меньше, чем
обычно, а у некоторых мышей вес даже снижался; у мно-
гих животных при вскрытии обнаруживались явления
энтерита. Поэтому при повторном введении лучше вво-
дить меньшее количество жидкости.

Способ введения исследуемого вещества зондом обла-
дает многими преимуществами. Так, имеется полная га-
рантия, что исследуемое вещество введено в нужном
количестве, причем это количество может быть достаточ-

но большим. Вещество даже весьма летучее не успевает при этом способе введения испариться. Однако если этот способ вполне приемлем при однократных и даже повторных опытах, то по другому ставится вопрос, когда надо вводить исследуемое вещество в хроническом, многомесячном опыте. Ежедневное введение зонда не может быть физиологически безразличным для животных, так как каждое введение все же наносит какую-то травму. Неудачное введение зонда, в результате чего вещество попадает в дыхательные пути, может вызвать у животного аспирационную бронхопневмонию, что отразится на результатах опыта.

При введении зондом химических веществ, обладающих местным раздражающим действием, не страдают слизистые оболочки полости рта, но влияния вещества на слизистую желудка избежать нельзя. Раздражение, воспринятое концевыми образованиями чувствительных нервов, передается в центральную нервную систему и может резко изменить состояние всего организма. Особенно это касается случаев, когда вещество обладает резко выраженным местным действием. Так, при введении мышам или крысам крепких кислот или щелочей смерть у этих животных наступает через 2—3 минуты и зависит главным образом от шока, вызванного резчайшим действием указанных веществ на чувствительные окончания нервов, находящиеся в слизистой желудка.

Искусственное введение препаратов в ротовую полость или непосредственно в желудок применимо при использовании химических соединений в их чистом виде (разумеется если при обычных температурных условиях они находятся в жидком состоянии), а также растворов исследуемых веществ.

Введение химического вещества с питьевой водой и пищей

Введение испытуемого вещества вместе с пищей или питьевой водой применяется в хронических опытах, когда условия введения должны быть максимально физиологичными, с одной стороны, а, с другой стороны, длительность введения нивелирует возможные небольшие погрешности в отношении вводимых доз. Этот метод особенно применим, когда подопытным животным скормли-

вают пищевые продукты, подозрительные на загрязнение каким-либо химическим веществом. Для успешного проведения опыта необходимо соблюдение двух условий. Первое условие зависит от физико-химических свойств испытуемого вещества: оно не должно быть легко летучим, так как в этом случае может испариться, пока животное будет постепенно есть пищу, куда это вещество внесено; не должно вступать в химические соединения с пищей, так как могут получиться совершенно неожиданные изменения токсических свойств вещества как в сторону повышения, так и в сторону понижения токсичности; наконец, оно не должно резко нарушать вкусовых качеств пищи, иначе животные не будут есть такую пищу. Второе условие — вся пища со внесенным туда ядовитым веществом должна быть обязательно съедена подопытными животными. Для этого следует осуществлять постоянный контроль, проверяя наличие пищи со внесенным туда веществом в кормушках. Корм с введенным химическим веществом дают животным утром и не дают ничего другого, пока он не будет съеден. На ночь оставляют обычного корма меньше, чтобы животные на голодный желудок быстрее съели положенную им норму пищи с химическим веществом. Труднее установить количество съеденного корма у мышей, так как они обычно разбрасывают еду по всей клетке, отчего еда перемешивается с подстилкой и испражнениями. Крысы также разбрасывают еду. Но крысам можно давать испытуемое вещество на маленьком кусочке хлеба (весом примерно в 1—2 г). Крысу помещают в небольшой металлический ящик с отверстиями в крышке для вентиляции или в стеклянную банку и держат там до тех пор, пока кусочек хлеба с внесенным на него токсическим веществом не будет съеден. Если давать хлеб с испытуемым веществом животному на голодный желудок, то долго ждать обычно не приходится.

Кроликам испытуемое вещество, если оно порошкообразное, можно высыпать в отруби, заваренные кипятком, или тертую морковь, а если вещество жидкое, то смешивать с сухими отрубями или отжатой тертой морковью. В таком виде можно вводить кроликам до 100 мл жидкости. Для того чтобы кролики не перевертывали кормушки, следует прикреплять их к стенке клетки, например металлическим кольцом. Экспериментатор дол-

жен выявить, как быстро животные съедают корм с токсическим веществом, так как это может дать некоторый материал для суждения о действии вещества на вкус пищи, а также как быстро и в каком количестве яд поступает в организм.

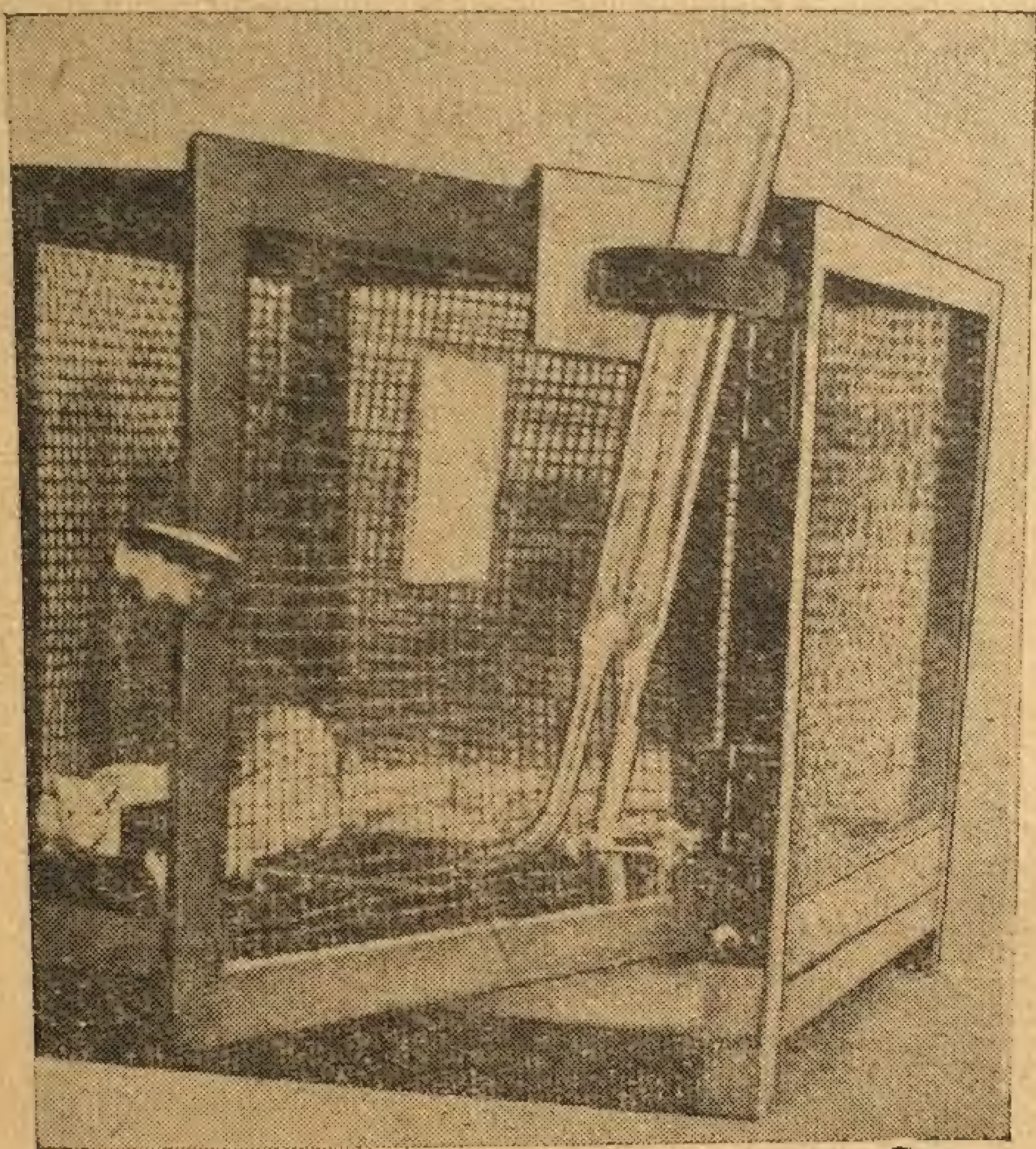


Рис. 7. Поилки для мышей и крыс.

Если исследуемое вещество растворяется в воде, его можно давать вместе с питьевой водой. Этот способ особенно хорошо применим к мышам и крысам. К клетке прикрепляют особые поилки, представляющие собой трубку диаметром 3—4 см и длиной 10—15 см желательного с нанесенной градуировкой. Один конец трубки запаян, а на другом имеется два небольших отростка. Один из них, снабженный пробкой, служит для наливания жидкости, а другой, закругленный, с открытым отверстием, вводится в клетку. Из этого отверстия мыши и крысы слизывают воду в нужном для себя количестве (рис. 7). При отсутствии поилок воду можно наливать в плоские баночки, которые подвешивают к стенке клетки так, чтобы грызуны не могли загрязнять воду подстилкой, испражнениями и т. п. Если воду с исследуемым веществом

животные пьют неохотно, то им не следует давать никакой другой жидкости.

Для того чтобы выяснить, не отражается ли вкус воды, измененный от присутствия исследуемого вещества, на количестве потребляемой воды, следует предварительно поставить контрольные опыты, наливая в поилки обычную воду. Учитывая количество выпитой воды за сутки, можно примерно рассчитать какое количество исследуемого вещества было введено животным. Для большей точности учета выпитой воды животных, в частности крыс, рассаживают в маленькие клетки поодиночке. Следует учитывать, что потребление воды во многом зависит от температурных, сезонных условий, состава пищи и т. п. Так, количество выпиваемой воды, по данным нашей лаборатории, на каждую мышь составляло в разных условиях от 1,5 до 3 мл, а на каждую крысу — от 8 до 15 мл. В среднем на каждую крысу приходилось по 11 мл воды в сутки. Эти данные показывают, что для успешного проведения опыта необходимо добиться, чтобы условия опыта были одинаковыми и для подопытных, и для контрольных животных. Сравнивать потребление воды у подопытных и контрольных животных можно только за одни и те же месяцы.

С помощью поилок можно в какой-то мере выявить влияние вкуса воды на величину потребления ее. После проведения предварительных контрольных опытов с наливанием в поилки обычной воды ее заменяют раствором испытуемого вещества и проверяют, увеличится или уменьшится потребление воды.

В качестве примера приводим собственные данные 2-месячного опыта, в котором производилось сравнительное изучение действия на мышей 10% растворов метанола, этанола и смеси метанола и этанола. В каждой клетке находилось по 6 мышей. Учет выпиваемой воды позволил выяснить, что в среднем за сутки из расчета на одно животное контрольные мыши, получавшие чистую воду, выпивали по 3,6 мл, мыши подопытные, получавшие раствор этанола, — по 4,1 мл; столько же выпивали животные получавшие смесь этанола и метанола. Мыши, получавшие раствор метанола, выпивали его меньше — по 2,9 мл.

Кролики пьют мало воды, а если им дается сочный зеленый корм, то и совсем не нуждаются в воде. Кошки

также пьют сравнительно мало воды. Поэтому вводить испытуемые вещества вместе с питьевой водой у этих животных затруднительно.

Собаки, особенно при повышенной температуре воздуха, пьют воду в большом количестве и охотно. Этим можно воспользоваться и вводить исследуемое вещество с питьевой водой.

Некоторые авторы пользуются этим способом, чтобы определить органолептически вкус водных растворов, содержащих те или иные концентрации испытуемых химических веществ. Собаке дают на выбор несколько растворов и отмечают какие из них она более охотно пьет. Но этот метод встречает возражения, так как органолептические ощущения животных не могут быть приравнены к органолептическим ощущениям человека.

Введение препаратов с питьевой водой является физиологичным. Но и этот метод имеет недостатки, в частности, в случаях, когда в одной клетке находится несколько животных, могут быть допущены погрешности при расчете количества выпитой воды (а отсюда и дозы) на одно животное. Общее количество выпитой воды делится на количество животных без учета, что одно животное может выпить больше, а другое меньше.

Сравнение различных способов перорального введения токсических веществ подопытным животным показывает, что каждый из способов имеет свои достоинства и свои недостатки. Поэтому способ введения токсических веществ следует подбирать, учитывая задачи исследования, химические и физические особенности испытуемых веществ, продолжительность опыта, вид подопытных животных и т. п. Учет всех перечисленных факторов позволит избежать ошибок, которые могут зависеть от неправильного выбора метода перорального введения.

Введение препаратов с питьевой водой можно использовать при испытании веществ в их чистом виде (если они являются жидкостями) или в растворах. Способ скормливания с пищей в принципе пригоден для испытаний химических препаратов в любой форме. Особенно целесообразно (при условии точного дозирования дневного рациона) применение этого способа при работе с твердыми веществами.

Глава 3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

Приступая к работе, экспериментатор должен в первую очередь четко сформулировать стоящую перед ним задачу, поскольку этим определяется подход к работе.

Токсичность химических веществ изучают при однократном, повторном и длительном введении их животным. При однократном введении определяют параметры действия исследуемого вещества, устанавливают клиническую картину отравления, изменения тех или иных функций организма под влиянием яда. При повторном введении токсических веществ в дозах, стоящих близко около максимально переносимой, представляется возможным наблюдать изменения в состоянии животных в динамике, уточнить картину отравления и выявить те методики, с помощью которых удастся наиболее точно отметить характерные черты отравления. Проблема хронического отравления малыми количествами вредных веществ в настоящее время является чрезвычайно актуальной для всех отраслей гигиены и, в частности, для гигиены воды в вопросах санитарной охраны водоемов от загрязнения промышленными сточными водами.

Как указывает проф. С. Н. Черкинский, разработка гигиенических нормативов является многосторонним комплексным исследованием, которое должно выявить значение нормируемых веществ с точки зрения санитарной охраны водоемов, характера и степени возможного неблагоприятного влияния этих веществ на санитарное состояние и качество воды в них и той опасности, которая

угрожает здоровью населения при загрязнении водоемов токсическими веществами. В общепринятой схеме гигиенического исследования, предложенной С. Н. Черкинским, наряду с санитарно-химическими, санитарно-биологическими приемами широко используется санитарно-токсикологическое исследование, где применяются физиологические, биохимические и токсикологические методы. Проведение санитарно-токсикологических исследований на теплокровных животных для выявления и обоснования предельно допустимых концентраций вредных веществ в водоемах является наиболее характерной чертой гигиенического подхода к нормированию в области санитарной охраны водоемов. Этим путем гигиеническая наука учитывает возможность непосредственного влияния загрязняющих водоем веществ на здоровье населения, так как прямым экспериментом решить эту задачу нельзя, а изучение состояния здоровья населения, пользующегося водоемами, не всегда может дать нужный эффект.

Мы не касаемся методики проведения санитарно-химической и санитарно-биологической части исследования, так как это не входит в задачу данной книги. Интересующиеся данным вопросом должны ознакомиться со специальной литературой (например, С. М. Драчев и др.).

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ САНИТАРНО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Остановимся на санитарно-токсикологическом исследовании. Схема проведения данного исследования может быть представлена в следующем виде:

- 1 — острые опыты с однократным введением вещества,
- 2 — подострые опыты с повторным введением вещества,
- 3 — хронический эксперимент.

Конечной целью санитарно-токсикологического исследования является выявление подпороговой, недействующей дозы токсических веществ при пероральном введении теплокровным животным в течение длительного времени. Поэтому основным приемом является хронический эксперимент. Но в случаях изучения химического вещества, токсикологическая характеристика которого неизвестна или мало освещена в литературе, необходимо исследование начинать с выявления действия вещества

при однократном и повторном введении. Не имея этих данных, невозможно дать токсикологическую оценку вещества, а при проведении хронического эксперимента трудно подобрать дозы, приближающиеся к пороговым, а также избрать конкретные методические приемы, способные обнаружить изменения функций организма, наступающие под влиянием малых доз токсического вещества.

В тех случаях, когда целью работы является не нормирование, а предварительная оценка токсичности, можно обойтись без длительных хронических экспериментов, ограничившись проведением острых и подострых опытов. Например, при исследовании условий спуска сточных вод промышленными предприятиями часто приходится решать вопрос о необходимой степени разведения сточных вод. Санитарно-химическая и санитарно-биологическая части исследования могут быть дополнены санитарно-токсикологическим исследованием. Так как сточные воды характеризуются сложным, непостоянным химическим составом, более целесообразно определить необходимую степень разведения данной сточной жидкости по токсикологическим показателям опытами при однократном и повторном (например, десятидневном) введении. Действие неразведенной и разведенной сточной воды испытывается обычно на мелких животных (мыши, крысы). Для определения верхнего параметра действия служит проба на выживаемость. Для определения нижнего параметра действия обычно используют различные показатели, например изменения веса, работоспособности и т. п. (см. последующие главы).

Подобная схема эксперимента основана на положении, выдвинутом в свое время Н. С. Правдиным, что предварительная токсикологическая оценка вещества (препарата) может быть произведена путем установления верхней и нижней границ диапазона его токсического действия — а) смертельной и б) пороговой дозы — в условиях острого опыта, т. е. при однократном введении. Два названных показателя, обозначаемые соответственно как «верхний» и «нижний параметры токсичности» (взятые в соотношении друг к другу), определяют «размах зоны токсического эффекта». Чем последняя уже, тем большая осторожность должна быть проявлена при нормировании вещества, так как опасность, что случайная

ошибка в сторону увеличения дозы может иметь следствием тяжелое отравление организма, будет при этом все более возрастать. Другими словами, допустимая доза должна быть значительно ниже пороговой. Чем шире зона токсического действия, тем менее опасно токсическое вещество в смысле возможности острого отравления. Поэтому допустимая доза может стоять ближе к пороговой (Н. С. Правдин).

Но при изучении действия малых количеств токсических веществ в длительном эксперименте эти положения могут измениться. Некоторые яды в больших дозах при однократном введении могут быть более токсичны, чем другие соединения, близко к ним стоящие по химическому составу. В малых же дозах, но при длительном введении последние являются более токсичными, чем первые. Примером может служить метанол, менее токсичный, чем этанол, в больших дозах при однократном введении, и наоборот, более токсичный, чем этанол, в малых дозах при повторном введении. Поэтому для оценки токсичности вещества в санитарно-токсикологическом исследовании широко используется определение верхнего параметра токсичности при однократном введении, особенно в отношении химических веществ малоизученных. Нижний же параметр, т. е. дозы, вызывающие минимальное действие, определяется в хроническом эксперименте.

Проведение острого токсикологического эксперимента

Основной задачей этого этапа работы является характеристика (в ряде случаев также сравнительная оценка) токсического действия исследуемых соединений в условиях острого отравления организма через пищеварительный тракт.

Определение верхнего параметра токсичности

Как указывалось выше, под «верхним параметром токсичности» вещества подразумевается его смертельная доза, т. е. минимальное количество, способное вызвать гибель животного. Однако накопленный токсикологией опыт показывает, что смертельная доза каждого вещества для разных животных одного и того же вида оказыва-

ется ра
сти все
колеба
любого
выходо
смерте
вычисл
ной гр
способ
посылк
экспер
животн
давянк
ний он
этого
токсич
татов
доз ве
дельно
больш
до на
группе
чиной
ния ле
в груп
Та
зывае
поним
бель
му в
«верх
шкал
смер
стве
чески
верх
рант
живо
щую
смер
собо
имее
лиз

ется различной даже при соблюдении строгой идентичности всех методических условий. Эти различия зависят от колебаний индивидуальной чувствительности к действию любого химического препарата. Теоретически простейшим выходом из положения представляется установление смертельной дозы для каждой особи с последующим вычислением средней арифметической для всей подопытной группы. Однако правомерное использование этого способа определения смертельной дозы имеет своей предпосылкой такое усложнение методической конструкции эксперимента и включение в него столь большого числа животных, что с точки зрения задач и возможностей подавляющего большинства токсикологических исследований он утрачивает всякую реальную ценность. В силу этого практически определение «верхнего параметра токсичности» производится на основании анализа результатов испытания ряда последовательно возрастающих доз вещества (при использовании для каждой дозы отдельной группы особей тождественного вида): от наибольшей дозы, не вызывающей ни одного случая смерти, до наименьшей, приводящей к гибели всех животных в группе. При этом учитывается зависимость между величиной дозы исследуемого препарата и частотой наступления летального эффекта (в процентах к числу животных в группе).

Таким образом, термин «смертельная доза» оказывается собирательным, поскольку под ним можно понимать любое количество вещества, вызывающее гибель животных независимо от частоты последней. Поэтому в современной литературе часто используют понятие «верхние параметры токсичности», подразумевая всю шкалу дозировок, вызывающих тот или иной процент смертности (от 0 до 100%). В настоящее время в качестве главных критериев летальной эффективности токсических веществ чаще всего принимают следующие три верхних параметра: а) максимально переносимую (толерантную) дозу (ДМТ, или $ДЛ_0$), не приводящую к гибели животных; б) средне смертельную дозу ($ДЛ_{50}$), вызывающую смерть 50% подопытных особей, и в) абсолютно смертельную дозу ($ДЛ_{100}$), воздействие которой влечет за собой тотальную гибель животных. Наибольшее значение имеет понятие о средне смертельной дозе, так как анализ «кривой нормального распределения» (см. главу 5)

показывает, что гибель животных от дозы, находящейся в области $ДЛ_{50}$, наиболее вероятна¹.

Так как гибель животных после однократного введения яда может наступить не сразу (это зависит от механизма действия яда), то за животным устанавливается наблюдение в течение 10—14 дней, после чего опыт считается законченным.

Если вещество не обладает выраженной токсичностью, то получить абсолютно смертельную дозу не удастся, так как за один прием животным возможно ввести только определенное количество вещества, зависящее от величины животного (см. главу 2). В таких случаях, чтобы получить примерные сведения о верхнем параметре токсичности вещества, продолжают введение возможно большей дозы ежедневно, регистрируя время гибели животного и суммарное количество введенного яда.

При установлении токсичности химических веществ желательно знать, в каких цифровых порядках находятся верхние параметры. Ориентировочные сведения могут дать литературные данные о смертельных дозах веществ, близких по химическому составу к исследуемому яду. В целях экономии животных «нащупывание» доз, лежащих в зоне летального действия, целесообразно производить, включая в каждую серию не более трех особей. Так, например, при введении мышам весом в 30 г, вещества в дозах от 0,1 до 0,9 мг можно выявить действие его доз от 3 до 30 мг/кг. Если все животные погибают, то опыты продолжают, вводя вещество в дозах от 0,01 до 0,09 мг, т. е. от 0,3 до 3 мг/кг. Опыты с большим количеством животных начинают от той дозы, при которой в ориентировочном опыте часть животных остается живой,

¹ Теоретически понятие о « $ДЛ_0$ » и $ДЛ_{100}$ » не является безупречным. Кроме того, некоторые современные методы обработки данных острого опыта исключают необходимость испытания доз, вызывающих гибель 0 или 100% подопытных особей (см. раздел «пробит-анализ» в главе 5). Тем не менее способы обработки материалов острого эксперимента, имеющие пока что наиболее широкое применение в практике санитарных токсикологов, предусматривают установление двух указанных верхних параметров токсичности как обязательное условие. Что касается выделения в качестве одного из самостоятельных верхних параметров токсичности так называемой минимальной смертельной дозы ($ДЛМ$), встречающегося в некоторых работах, то оно, не имея теоретического обоснования, не оправдывается в то же время и практическими соображениями (прим. Ред.).

вводя
устан
а так
смерте
как $ДЛ$
в общ
обычно
шей, к
На
ет опр
ких-ли
мер, н
При
дует у
ления
то степ

Набл
что в р
острого
мента
органи
чальны
стадию
шего ра
ляющих
ют наи
белю
когда н
пов). П
почти м
отдельн
возмож
же одно
токсиче
наличие
ления,
средств
ман). П
ние поч
ле отра

вводя дозы ниже и выше этой дозы, экспериментально установив абсолютно смертельную, средне смертельную, а также максимально переносимую дозу (расчет средне смертельной дозы подробнее приведен в главе 5). Так как для установления параметров токсичности требуется в общей сложности большое количество животных, то обычно используют мелких лабораторных животных (мышей, крыс, морских свинок).

Наличие разной видовой чувствительности заставляет определять смертельные дозы не на одном виде каких-либо животных, а по меньшей мере на двух (например, на мышах и крысах).

При выявлении верхних параметров токсичности следует учитывать, как быстро наступают симптомы отравления и гибель животных. Эти наблюдения могут в какой-то степени дать характеристику токсикодинамики яда.

Стадии отравления

Наблюдения за отравленными животными показывают, что в ряде случаев можно разграничить несколько стадий острого отравления, а именно: скрытая стадия (от момента введения яда до первых признаков действия его на организм), продромальная стадия (характеризуется начальными, неясными и нетипичными явлениями); через стадию нарастания отравление переходит в стадию высшего развития, когда все симптомы отравления, представляющие характерную для данного яда картину, достигают наибольшей силы. Эта стадия или заканчивается гибелью животного, или переходит в стадию разрешения, когда начинается явное спадение действия яда (Н. В. Попов). При действии больших доз, когда смерть наступает почти моментально или в очень короткие сроки, выявить отдельные стадии отравления часто не представляется возможным. В ряде случаев после отравления, иногда даже однократного, можно отметить так называемое метатоксическое действие яда. Под этим термином понимают наличие более или менее отдаленных последствий отравления, не связанных с нахождением в организме (непосредственным действием) яда (Н. В. Попов, И. Г. Гельман). Показательным примером может служить поражение почек, обнаруживаемое спустя длительный срок после отравления сулемой.

При изучении картины острой интоксикации учитывают время развития интоксикации, сроки гибели животного, а в случае выживания — быстроту восстановления функций организма.

Наблюдение за клинической картиной отравления

При проведении токсикологического эксперимента многое зависит от умения экспериментатора наблюдать за животным, за появлением тех или иных симптомов отравления, чтобы, суммировав их, выявить характерное действие яда.

Под воздействием токсических веществ изменяется внешний вид животных и их поведение. Клиническое исследование поведения животных состоит из следующих моментов: а) наблюдение за общей двигательной активностью животных и координацией их движений (характер походки, сохранение равновесия и т. д.), выявление типичных движений, тремора, судорог, характера судорог (клонические, тонические), парезов и параличей; б) определение тонуса мускулатуры путем пальпации различных групп мышц животного; в) выявление реакции животного на ориентировочные, тактильные и болевые раздражители.

Токсические вещества в начале своего действия чаще вызывают у животных явления возбуждения центральной нервной системы. Это может зависеть от различных причин, в том числе от повышения раздражимости клеток коры головного мозга с генерализацией возбуждения: вследствие ослабления активного торможения, а также под влиянием усиления импульса с периферических концов анализаторов. Животные усиленно, часто беспорядочно двигаются, прыгают, бросаются на стенки клетки. Иногда наблюдаются явления стереотипии — например, мыши бегают по кругу, крысы вращаются вокруг своей оси (как бы «вальсируют»). На незначительное раздражение животные отвечают резко повышенной реакцией вплоть до агрессивной. У мышей иногда наблюдается симптом Германа Штрауба (мышь держит хвост вертикально, трубой). Это говорит о том, что возбуждение распространилось на нижележащие отделы центральной нервной системы, в частности спинной мозг. Походка у животных становится шаткой, движения некоординированными. Начинаются судорожные явления.

Я
центр
тель
никат
Физи
тии о
шари
ральн
гаться
кучку
а зате
кие б
Насту
Хадро
разви
ложит
помещ
отрав
мышей
дия —
мышь
ний; 3
неподв
двигает
боково
жение;
ствуют
но чет
кого т
В ка
вотных
ком на
действи
нием у
кролик
картин
вышенн
тели б
ные яв
мор ко
приступ
нялся я
Животн

Явления возбуждения нередко сменяются угнетением центральной нервной системы (выражающимся двигательной заторможенностью), хотя последнее может возникать и без предварительного периода возбуждения. Физиологический механизм «угнетения» состоит в развитии охранительного торможения в коре больших полушарий, часто иррадиирующего на нижележащие центральные нервные образования. Животные перестают двигаться, иногда как бы «застывая» на месте, сбиваются в кучку. Реакция на раздражители сначала понижается, а затем животные вообще перестают реагировать на какие бы то ни было раздражители, в том числе и болевые. Наступает так называемое боковое положение. Риссер и Хадроссек (Riesser и Hadrossek) описывают пять стадий развития этого состояния. 1-я стадия характеризуется положительным результатом опыта с вращением. Животных помещают в банку, которую быстро вращают. При этом отравленные мыши падают на спину. У неотравленных мышей этого явления никогда не наблюдается; 2-я стадия — временное боковое положение. Положенная на бок мышь некоторое время остается в приданном ей положении; 3-я стадия — животное полунаркотизировано, сидит неподвижно. При болевом раздражении с трудом передвигается; 4-я стадия — легкий наркоз. Мышь находится в боковом положении, но еще реагирует на болевое раздражение; 5-я стадия — глубокий наркоз, рефлексы отсутствуют, за исключением роговичного. Эти стадии особенно четко видны при действии веществ наркотического типа.

В качестве примера изучения изменений поведения животных приводим эксперименты, проведенные сотрудником нашей лаборатории С. М. Павленко, при изучении ею действия на животных флотореагента ОПС-М. Под влиянием указанного вещества в опытах на мышах, крысах, кроликах, кошках и собаках ею выявлена характерная картина отравления: вначале у животных отмечалась повышенная возбудимость, реакция на внешние раздражители была выражена резко; затем начинались судорожные явления — тикообразное подергивание головы, тремор конечностей, а у некоторых животных выраженные приступообразные судороги. Период возбуждения сменялся явлениями угнетения центральной нервной системы. Животные лежали неподвижно, тонус мышц был повы-

шен. Отмечались явления кататонического ступора (животные оставались длительное время в приданных им неестественных положениях, не реагировали на раздражители). У некоторых животных проявлялась агрессивность — крысы пытались укусить экспериментатора, а мышей, которых помещали к ним в клетку, немедленно загрызали и рвали на части. Собаки злобно реагировали на любое слабое прикосновение, в то же время никак не реагировали на присутствие кошки. Отмечались явления, схожие с «негативизмом», когда при попытках экспериментатора сдвинуть животное с места или переменить положение, оно упорно сопротивлялось. С другой стороны, в определенной стадии отравления наблюдались явления «стереотипии». Например, собака отказывалась от пищи, но когда ей насильно в рот вкладывали какой-либо предмет, даже несъедобный, то животное долго и стереотипно его жевало. Примерно через 5—8 суток после однократного введения ОПС-М патологические явления стихали.

По поведению животных можно судить о некоторых свойствах токсических веществ. Так, о раздражающем действии введенного вещества говорит общее беспокойство животных, потирание лапами мордочки, встряхивание головой, появление слюноотделения и т. д. При действии некоторых ядов наблюдается выпячивание глазных яблок (экзофтальм), резкое расширение или сужение зрачка.

Изменение цвета кожных покровов часто является характерным признаком действия яда. Например, карбонилы металлов при пероральном введении, отщепляя внутри организма окись углерода, вызывают появление карбоксигемоглобина, придающего алый цвет крови, а отсюда и кожным покровам, а также внутренним органам. Наоборот, действие ядов, вызывающих аноксемию, приводит к тому, что кровь, а отсюда и кожные покровы окрашиваются в синеватый цвет. Резкое сокращение просвета периферических сосудов вызывает побледнение кожи.

Одним из наиболее постоянных симптомов отравления служит изменение дыхания. Дыхание может ускоряться вплоть до того, что его трудно сосчитать, или, наоборот, замедляться так, что его, например, легко сосчитать у мышей, у которых в норме частоту дыхания определить трудно. Изменяется также глубина дыхания и его ритм.

Часто (особенно при пероральном введении токсических веществ) на одно из первых мест выходят патологические явления со стороны желудочно-кишечного тракта (рвота, понос или запор, отсутствие аппетита, отказ от еды и т. п.).

Учет данных, полученных при наблюдении за отравленным животным, позволяет определить характерные особенности действия яда.

Постановка подострого опыта

Как указывалось выше, проведение подострых опытов является одним из важных этапов санитарно-токсикологического исследования, особенно если приходится вести эксперименты с веществом, ранее не изучавшимся.

При проведении опытов с повторным введением вещества изучают изменения в клинической картине отравления в динамике, так как дозы, применяемые при повторном введении, значительно меньше, чем в остром опыте. Животное не погибает, но клиническая картина отравления развивается достаточно ясно. За время опыта успевают развиться те или иные патологоанатомические изменения органов и тканей. Применение различных методик, учитывающих изменения различных функций организма, и наличие патологоанатомических изменений позволяют выявить характер действия вещества, а отсюда — подобрать для хронического опыта наиболее чувствительные методы.

При проведении подострого эксперимента следует использовать широкий круг методик, позволяющий судить о состоянии основных функциональных систем организма. Хорошие результаты дают также интегральные методики.

Принято считать, что продолжительность подострого опыта должна составлять около $1/30$ срока жизни животных исследуемого вида. Вводимая доза вещества может колебаться между $1/5$ и $1/20$ ДЛ₅₀ в зависимости от ширины параметра действия данного яда. Полученные результаты подвергаются такой же обработке, как результаты хронических и острых опытов (см. главу 5).

В подостром опыте возможно также изучение действия вещества на развитие (рост или вес) молодых животных.

Одним из основных предназначений подострого эксперимента является выяснение наличия кумулятивных свойств у изучаемого препарата или, напротив, привыкания животных к данному яду.

Явления кумуляции и привыкания

Кумуляция — усиление действия вещества при повторном введении малых доз.

Выяснение вопроса, не обладает ли изучаемое вещество кумулирующим действием, является важным для токсикологической характеристики яда. Так, при повторном введении яда дозы, определенные при однократном введении как максимально переносимые, могут быть значительно уменьшены и все же могут вызвать смертельный исход. В качестве примера приводим данные, полученные при исследовании токсичности гексогена (О. Н. Елизарова). Однократное введение кроликам гексогена в дозе 500 мг/кг вызывало гибель животных, меньшие дозы при однократном введении не являлись смертельными. Но при повторных введениях летальный исход давали значительно меньшие дозы гексогена — вплоть до 15 мг/кг, когда смерть животных наступала после 15—17 введений. Следует отметить, что суммарное количество гексогена при этом было меньше, чем однократно введенная смертельная доза.

Явления кумуляции можно выявить ежедневным введением животным исследуемого вещества в дозе $1/10$ — $1/20$ ДЛ₁₀₀ или ДЛ₅₀ (в зависимости от ширины зоны токсичности вещества). При этом учитывают суммарное количество яда. Если через 1—2 месяца гибели животных не отмечается, можно рассчитывать, что выраженное кумулятивное действие у данного вещества отсутствует.

Противоположное кумуляции явление, так называемое привыкание, выражается в том, что при длительном и частом проникновении яда в организм как бы уменьшаются симптомы отравления им. Привыкание расценивается как понижение чувствительности организма к воздействию яда, так как, несмотря на внешнее отсутствие токсического эффекта, в организме под действием яда происходят глубокие изменения.

Проф. Н. С. Правдин рекомендовал для выяснения наличия явлений кумуляции или привыкания применять

следующий прием. На мышах сначала устанавливается средне смертельная доза ($ДЛ_{50}$) исследуемого химического вещества. Затем группе интактных мышей (не менее 25—30) вводят в течение месяца вещество в малой дозе, стоящей близко к пороговой, например $1/10$ или $1/20$ $ДЛ_{50}$. По окончании месячного срока мышам вводят ту дозу, которая ранее была установлена, как $ДЛ_{50}$. Наличие кумулирующего эффекта у данного вещества скажется увеличением гибели животных, и, наоборот, явления «привыкания» уменьшат число погибших животных.

Особенности хронического санитарно-токсикологического исследования

Целью хронического санитарно-токсикологического исследования является представление материала для установления предельно допустимой дозы (концентрации) того или иного токсического вещества. Под предельно допустимой дозой (концентрацией) подразумевается максимальное количество химического вещества, которое само по себе при продолжительном действии не вызывает каких-либо реакций, нарушающих уравнивание организма с внешней средой. На практике установление предельно допустимых доз химических веществ должно обеспечивать не только предупреждение хронических отравлений, но и неярко выраженных сдвигов в жизненных отравлениях организма, способствующих при условии длительного многолетнего воздействия соответствующего вещества развитию патологических изменений. Таким образом, в санитарно-токсикологическом эксперименте испытывается действие пороговых и подпороговых доз. Но пороговая доза в какой-то мере является величиной условной, так как зависит не только от свойства самого вводимого вещества, но также и от других условий: длительности воздействия, видовой и индивидуальной чувствительности животных, от примененных методов исследования. Это заставляет в каждом отдельном случае подбирать такие методики, которые наиболее тонко отражают изменения всего организма или его отдельных частей, происходящие под влиянием токсического вещества. Оценка применяемых методик дана в главе 4.

При разработке гигиенических нормативов по санитарной охране водоемов от загрязнения промышленны-

ми сточными водами санитарно-токсикологический эксперимент является частью комплексного исследования. Поэтому целесообразно изучать действие токсических веществ в растворенном виде и в таких дозах, которые могут встречаться в практике, т. е. в сточных водах. В случаях, когда при нормировании устанавливаются дозы, основанные на данных, полученных при органолептических и санитарно-химических исследованиях, следует проверить, не окажут ли действие эти дозы на животных при длительном введении.

Следует учитывать, что воздействие на организм животного доз пороговых или близких к порогу действия часто бывает настолько невелико, что его довольно трудно отдифференцировать от нормальных колебаний показателей тех или иных функций организма. Поэтому необходимо в опыт включать и дозы, стоящие значительно выше пороговых. Это дает уверенность, что обнаруженные по тем или иным показателям колебания при пороговых дозах являются следствием действия яда, так как такие же изменения, но более выраженные, обнаруживаются при действии больших доз.

Продолжительность хронического опыта

При проведении санитарно-токсикологических исследований встает вопрос о продолжительности проведения хронического опыта. Конечно ясно, что чем дольше проводится хронический опыт, тем более достоверные результаты будут получены. Но практически невозможно растягивать исследование на ряд лет. Если не имеется специальных заданий (например, при изучении канцерогенного действия), то в ряде работ возможно ограничить хронический опыт на мышах 4—5 месяцами, а на крысах и кроликах — 6 месяцами. При наличии способности изучаемого вещества к кумуляции надо стремиться увеличить сроки хронического опыта. В качестве примера приведем исследование токсических свойств динитробензола. Как известно, это вещество обладает способностью к кумуляции. Малая доза его — 1 мг/кг — вызвала у собаки острый приступ отравления по прошествии 6 месяцев хронического опыта. В течение всего времени до этого видимых явлений отравления у животного не наблюдалось. Следующую, меньшую дозу динитробензола пришлось испыты-

вать
го м
она
ская

П
виду
доза
ные
ченн
одно
(О. К
при с
дейст
ности
дочно
сравн
Пере
неско
эту ж
в хро
после
кисло
желу
набл
Прив
реакт
в орг
П
ганиз
мичес
ных т
ле оп
сходя
рохло
лых к
ющие
жите
затем
занно
вотны
опыта

вать на другой собаке в течение более чем года, после чего можно было эту дозу признать подпороговой, так как она не вызвала каких-либо изменений (Н. А. Забежинская).

Характер действия ядовитых веществ

При проведении хронических опытов следует иметь в виду, что яды часто имеют две фазы действия: в малых дозах они усиливают, а в больших угнетают определенные физиологические функции. Приведем данные, полученные при изучении действия синильной кислоты при однократном введении и в хроническом опыте (О. Н. Елизарова). Синильная кислота в дозе 0,005 мг/кг при однократном введении оказывала возбуждающее действие на функции желудка кроликов. Общая кислотность и количество свободной соляной кислоты в желудочном соке повышалось примерно на 24—45% по сравнению с контрольными данными того же кролика. Переваривающая сила желудочного сока была также несколько увеличена по сравнению с нормой. Но когда эту же дозу синильной кислоты стали вводить кроликам в хроническом шестимесячном опыте, то уже через месяц после начала введения яда отмечалось снижение общей кислотности и количества свободной соляной кислоты в желудочном соке. Явления угнетения функций желудка наблюдались на протяжении всего дальнейшего опыта. Приведенный факт иллюстрирует изменения характера реакции на яд в процессе его хронического поступления в организм.

По своей динамике изменения отдельных функций организма на фоне хронического воздействия вредных химических веществ могут быть подразделены на 3 основных типа. Иногда ядовитое действие проявляется в начале опыта, а затем симптомы отравления уменьшаются, сходят почти на нет. Так, при изучении действия динитрохлорбензола на условнорефлекторную деятельность белых крыс в начале опыта отмечались изменения, выражающиеся в удлинении латентного периода условных положительных рефлексов, срыве дифференцировки. Но затем, примерно через месяц после начала введения указанного вещества, условнорефлекторная деятельность животных нормализовалась и до конца шестимесячного опыта не отличалась от контроля (Н. А. Забежинская).

В других случаях, наоборот, в первое время опыта явлений отравления не наблюдается и только после какого-то периода отмечаются изменения функций организма животных. Примером может служить исследование действия малых доз тетраэтилсвинца на условнорефлекторную деятельность белых крыс. Доза яда в 0,00001 мг/кг в течение первых месяцев не вызывала каких-либо изменений в деятельности центральной нервной системы крыс, но через четыре месяца после начала введения тетраэтилсвинца начались выраженные изменения условнорефлекторной деятельности, которые наблюдались до конца опыта (О. Н. Елизарова).

Чаще при проведении хронического эксперимента отмечается волнообразный характер изменений функций: на протяжении опыта периоды нарушения сменяются периодами нормализации. Такая картина наблюдалась при проведении хронических опытов со многими ядами. Особенно четко это видно при изучении условнорефлекторной деятельности животных, в частности крыс. Чередование периодов измененной условнорефлекторной деятельности и видимой нормализации ее отмечалось при изучении воздействия тетраэтилсвинца в дозах 0,001 и 0,0001 мг/кг. В опытах с исследованием действия тринитротолуола, при проверке функций печени при помощи сахарной нагрузки наряду с извращенными сахарными кривыми в некоторых опытах были получены кривые, почти не отличающиеся от нормы (О. Н. Елизарова). Все это говорит о волнообразном течении отравления в хроническом эксперименте.

Контроль за всасыванием исследуемого вещества в организме

При проведении хронических опытов следует убедиться, что вводимое вещество всасывается в желудочно-кишечном тракте подопытных животных. Основным выделительным органом, как известно, являются почки. Наличие изучаемого вещества или продуктов его распада в моче явно свидетельствует, что это вещество всосалось в желудочно-кишечном тракте, попало в кровь и, пройдя через организм, выделилось с мочой. Наблюдение за выделением веществ с мочой в какой-то степени помогает уточнить токсикологическую характеристику изучаемого ве-

щества, выявить особенности его действия. Так, при изучении действия тринитротолуола на животных определялись продукты его превращения в моче (реакция Вебера с некоторыми модификациями). Чем более значительной была доза, вводимая животным, тем ярче получалась соответствующая химическая реакция в моче. Так, при введении кроликам тринитротолуола в дозе 10 мг/кг реакция была резко положительной, при введении 5 мг/кг — положительной. Даже при введении такой небольшой дозы, как 1 мг/кг, реакция оставалась положительной, хотя и была чаще выражена слабо. Полученные результаты подтвердили, что указанные дозы тринитротолуола всасывались в кровь пропорционально своей величине. Но регулярное исследование мочи выявило, что при проведении хронического опыта у кроликов, получавших вещество в дозах 5 и 1 мг/кг, все чаще реакция мочи становилась отрицательной. На второй и третий месяцы опыта количество положительных реакций мочи на продукты превращения тринитротолуола снизилось до 15%. Для того чтобы выяснить, продолжается ли всасывание тринитротолуола в желудочно-кишечном тракте, кроликам было введено по 10 мл этанола, разведенного в воде. В результате нарушения реактивности организма в моче, собранной после введения этанола, реакция оказалась положительной (О. Н. Елизарова).

Определение химических веществ в органах животных

Среди зарубежных авторов широко распространено мнение, что для оценки опасности промышленного яда недостаточно определить количество его во внешней среде. Они считают необходимым определить количество яда, сорбированного организмом, для выявления того количества, которое может вызвать отравление. Поэтому при токсикологических исследованиях выявляется наличие химических веществ в отдельных частях организма (в крови, различных жидкостях, разных органах), особенно при хроническом воздействии малых доз. Для этого предлагаются различные методики — хроматографические, с применением радиоактивных элементов и т. п. (Я. А. Тейсингер). Не отрицая желательности подобных методов, мы все же не считаем возможным отказаться от исследова-

ния изменений функций организма при помощи наиболее чувствительных методов, так как наличие или отсутствие какого-либо вещества в крови или органах еще не говорит о наличии или отсутствии вредного действия его.

Обеспечение исследования контролем

Каждый опыт обеспечивается надлежащим контролем. В первую очередь контролем служат показатели, полученные у подопытных животных до начала введения токсического вещества. Кроме того, следует иметь серию контрольных животных. Контрольные животные должны быть однотипными с подопытными, одного веса, одного возраста, одной масти, взяты из одного питомника. Очень желательно работать с животными одного помета или на животных чистых линий. Контрольные животные находятся в тех же условиях и подвергаются таким же манипуляциям, как подопытные. По количеству животных контрольная серия должна быть не меньше серии подопытных животных. Необходимо учесть, что хронический опыт обычно захватывает разные времена года, когда могут наблюдаться сезонные изменения организма животных. Тогда и у подопытных, и у контрольных животных могут отмечаться аналогичные изменения разной интенсивности. Для того чтобы возможно было учитывать сезонные влияния, а также изменения, которые могут зависеть от условий содержания животных, хронические опыты, как сказано выше, обеспечиваются двойным контролем, т. е. контрольными животными и установлением нормальных показателей у подопытных животных до начала за-
травки.

Количество животных в сериях. Количество животных в каждой серии должно быть таким, чтобы можно было рассчитывать получить вполне достоверные данные. Большинство авторов считает необходимым придерживаться при проведении опытов следующих минимальных количеств животных на каждую серию: мышей — 20—25, учитывая, что при длительном содержании может быть отход за счет интеркуррентных заболеваний; крыс и морских свинок можно брать в несколько меньшем количестве — по 6—7; кроликов — по 5. Конечно, следует учитывать в первую очередь ту задачу, которая поставлена при проведении опыта. Если указанного количества

животных в какой-то степени достаточно, чтобы выявить отклонения в функциях организма, то при необходимости получить достоверные статистические данные ставят эксперименты на большем количестве животных (см. главу 5).

Патологоанатомическое исследование

Все опыты заканчиваются патологоанатомическим исследованием. Уже макроскопическое исследование позволяет выявить наличие или отсутствие характерных для данного яда патологоанатомических изменений в органах животных. Следует помнить, что животные, подвергающиеся действию токсических веществ, становятся более чувствительными к инфекции и чаще заболевают (так называемое метатоксическое действие яда). Животных, оставшихся по окончании опыта в живых, умерщвляют. Способы умерщвления животных разнообразны. Так, для умерщвления мелких грызунов чаще применяют декапитацию, действие больших количеств летучих наркотиков (например, эфир), замораживание (например, в жидкой углекислоте); для более крупных животных применимо воздействие электрического тока (собаки), действие больших количеств летучих наркотиков и т. п. Каждый из способов умерщвления в какой-то степени отражается на патологоанатомической картине, поэтому вопрос о выборе способа надо решать, исходя из задач исследования.

В ряде случаев в зависимости от необходимости производится гистологическое исследование органов и тканей животных. Исследованию подлежат не только подопытные животные, но и контрольные, так как у них могут быть найдены изменения, зависящие от условий содержания и т. п.

В зависимости от специфики поражающего действия изучаемого препарата гистологическое исследование включает в себя изучение структуры органов и тканей, обработанных специальными методами, предназначенными для дифференциального анализа различных видов дистрофического перерождения, что особенно характерно для хронических опытов (технику см. в руководствах по патологоанатомическим методикам). В последние годы

все шире начинают внедряться гистохимические методы, позволяющие обнаружить начальные и обратимые процессы структурного повреждения, представляющие морфологический субстрат метаболических изменений. Указанные исследования могут оказать ценную помощь в выявлении действия малых доз токсических веществ, особенно при длительном введении их.

Н

Вы
гическ
ся чре
ше, ве
в данн
только
ных ос
дик, пр
органи
одинак
разном
вещест
только
стемы)
малочу
количе
ских ис
вестны
сдвиги
ях иде
рогово
рый об
функци
К
мента,
зы, пре
сится ч

Глава 4

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДИКИ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В САНИТАРНО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Выбор методик для проведения санитарно-токсикологического исследования (особенно хронического) является чрезвычайно серьезной задачей. Как было указано выше, величина дозы конкретного вещества, определенной в данном исследовании в качестве пороговой, зависит не только от токсичности изучаемого препарата для подопытных особей, как таковой, но и от чувствительности методик, применяемых в эксперименте. На разных функциях организма действие одного и того же яда отражается неодинаково. С другой стороны, одна и та же функция по-разному изменяется под влиянием различных химических веществ. В силу этого всякая методика, выявляющая только специфические изменения какого-либо органа (системы), во многих случаях может объективно оказаться малочувствительной. Правда, почти каждый из большого количества методов, предложенных для токсикологических исследований, при определенной дозе яда и через известный промежуток времени позволяет обнаружить сдвиги в функциях организма. Однако речь в этих случаях идет о *надпороговых* дозах. Для определения же *пороговой* дозы приходится подыскивать такой метод, который обнаружил бы начальные, еще слабые изменения функций под действием малых количеств яда.

К методам санитарно-токсикологического эксперимента, ставящего своей целью определение пороговой дозы, предъявляются определенные требования. Сюда относятся чувствительность, быстрота определения, гигиени-

ческая значимость, адекватность (Н. С. Правдин). При выборе метода нужно руководствоваться этими требованиями. Методы выявления функциональных изменений организма подопытных животных подбирают в соответствии с особенностями токсикологической характеристики изучаемых веществ. Нельзя механически применять тот или другой метод, он должен быть адекватен задачам исследования.

Методики, применяемые в токсикологическом эксперименте, в зависимости от их принципиальной целенаправленности могут быть подразделены на две основные группы. К одной из них относятся так называемые специфические методы, выявляющие характерные изменения, происходящие в организме под действием определенного яда и носящие обычно органнй характер. Другую группу составляют так называемые интегральные методики, обнаруживающие системные поражения организма, возникающие независимо от начального субстрата приложения специфического токсического действия данного вещества. Интегральные методы исследования состояния организма не дают возможности судить об избирательной локализации поражений, однако достаточно тонко обнаруживают наличие токсического эффекта как такового (Н. В. Лазарев; З. Б. Смелянский; И. Г. Фридлянд). Разумеется, провести грань между интегральными и специфическими методиками не всегда возможно, поскольку по отношению к разным токсическим веществам одна и та же методика может приобретать различное значение.

В настоящей книге не представляется возможным дать подробное описание всех методик, которые могут быть использованы в токсикологии. Приводится лишь ряд методов, наиболее отвечающих задачам санитарно-токсикологического эксперимента. Некоторые из них имеют общее значение и находят весьма широкое применение в биохимии, нормальной и патологической физиологии и т. п.; другие более специфичны именно для санитарно-токсикологического эксперимента.

НАБЛЮДЕНИЕ ЗА ДИНАМИКОЙ ВЕСА ЖИВОТНЫХ

Как было упомянуто выше, чувствительным показателем общего состояния подопытных животных являются изменения их веса. Уменьшение или недостаточная при-

бавка веса подопытных животных по сравнению с контрольными является явным доказательством действия токсического вещества. Изменения веса особенно показательны у молодых, растущих животных. Так, показательные результаты были получены нами на мышатах и крысках в опытах с выявлением действия малых доз различных токсических веществ. Продолжительность опыта была от 10 до 25 дней. У взрослых животных, достигших веса, соответствующего их возрасту, при воздействии токсических веществ также часто обнаруживаются изменения веса. Нормальные показатели веса для представителей отдельных видов животных в соответствии с возрастом приведены в табл. 4.

Таблица 4

Средний вес (в граммах) лабораторных животных в соответствии с их возрастом (по К. Л. Ковалевскому, 1958)

Возраст, дни	Самцы	Самки
--------------	-------	-------

1. Мыши

7	3,7	3,5
14	5,8	5,5
21	8,3	7,3
28	11,3	9,7
35	12,9	10,3
49	17,2	14,3
70	21,0	17,6
90	23,9	20,2
140	26,3	23,8

2. Крысы

14	17,2	16,1
28	49,5	45,1
35	50,5	47,2
63	90,4	79,9
91	153,3	137,1
120	215,4	170,3
150	238,6	189,4
180	257,9	199,4

Возраст, дни	Самцы	Самки
--------------	-------	-------

3. Морские свинки

4	79	81
14	110	108
20	153	148
25	187	179
35	246	248
41	274	272
52	352	338
58	400	365
67	464	420
84	510	488

4. Кролики (порода шиншилла, наиболее часто используемая)

60	820—950	790—900
120	2 100—2 300	1 700—2 000
150	2 855—3 000	2 100—2 500
180	3 150—3 500	2 900—3 100

Следует отметить, что показания веса только тогда будут достоверными, когда подопытные и контрольные группы подбираются из одинаковых животных (одной породы, одного возраста, одного первоначального веса).

Взвешивание мышей и крыс можно производить на небольших чашечных весах типа Беранже. Животных помещают под заранее взвешенную стеклянную воронку или в коробку. При некоторой сноровке можно взвесить животное и без этих приспособлений. На весах типа Беранже улавливаются колебания веса животных до 100 мг, такая чувствительность весов обычно для практики бывает достаточной. Можно использовать так называемые гастрономические весы особой чувствительности (ВНЦ 10), где одно деление равно весу в 2 г. Определение веса мышей на этих весах менее точно, но для взвешивания крыс чувствительность весов вполне достаточна. Достоинством «гастрономических весов» является возмож-

ность производить взвешивание быстро, так как вес сразу показывается стрелкой. Кроликов и кошек взвешивают на одночашечных так называемых детских весах, хотя можно использовать и любые другие чашечные весы с чашками достаточно больших размеров. Собак взвешивают на весах с возможно большей площадкой. При взвешивании животных нужно следить, чтобы они правильно размещались на чашке или площадке весов, иначе показатели не будут соответствовать весу. Животных взвешивают всегда в одно и то же время, обычно утром, перед дачей корма. Для того чтобы выяснить нормальную динамику веса, перед началом опыта производят несколько контрольных взвешиваний. Вес следует сопоставить с величиной данного животного. Отставание веса сигнализирует либо о заболевании животного, либо о серьезных нарушениях в условиях его содержания.

Во время хронического опыта взвешивать животных можно один раз в неделю или 10 дней, в более кратковременном опыте взвешивание производят чаще. При работе с молодыми, растущими животными их взвешивают каждый день или через день.

ИЗМЕРЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА

Изменения температуры тела во многих случаях являются показателем действия токсического вещества на организм животных. Терморегуляция у лабораторных грызунов имеет некоторые особенности. Мыши, крысы и кролики до месячного возраста пойкилотермны. Они реагируют на внешнюю температуру пассивно, как холоднокровные животные. В шестинедельном возрасте животные реагируют на внешнюю температуру уже активно. Взрослые животные сохраняют стабильную температуру тела. Однако ее устойчивость у взрослых грызунов все же очень относительна. Так, у мышей голодание, даже суточное, или инфекционные заболевания быстро ведут к проявлению пойкилотермии (П. П. Сахаров, А. И. Метелкин).

У кроликов изменения температуры тела тоже в какой-то степени зависят от температуры внешнего воздуха. Так, после часового пребывания при различной внешней температуре у кролика были обнаружены следующие изменения температуры тела:

	Температура воздуха				
	5°	10°	20°	35°	40°
Температура тела кролика	37,5°	38,0°	38,7°	40,5°	41,6°

В летнее время температура тела у кроликов вообще выше на 0,5—1° по сравнению с их температурой зимой (П. В. Терентьев и др.).

Учитывая сказанное, при термометрировании животных необходимо отмечать и температуру внешней среды.

Температура тела лабораторных животных колеблется на протяжении суток. Например, у кроликов эти колебания находятся в пределах 38,5—39,3°. В утренние часы температура тела более высокая, к 13—14 часам она снижается, а затем вновь повышается (Т. М. Кучеренко).

Температура тела лабораторных животных измеряется введением на 3—5 минут в прямую кишку максимального медицинского или ветеринарного термометра. Термометр для измерения температуры тела у мышей и крыс должен быть очень тонким. Перед пользованием, так же как и по окончании измерения, термометр дезинфицируют (например, после обтирания погружают в спирт), а перед пользованием слегка смазывают вазелином. При термометрии животное должно находиться в спокойном состоянии. Вводить термометр надо медленно, осторожно, вращая его. Кошкам, собакам и кроликам термометр вводят сравнительно глубоко, на 3—5 см, оставляя снаружи только ту часть, которая нужна, чтобы удержать термометр рукой. Мышам и крысам термометр вводят примерно на 15 мм. Следует учесть, что чем глубже вводят термометр, тем более высокую температуру он показывает. Например, при введении термометра крысам на глубину 10—12 мм температура была 35°, а при введении на 13—15 мм — 37,9° (А. И. Метелкин). Отсюда ясно, что термометр надо вводить всегда на одно и то же расстояние, например до резинового кольца, надетого на термометр.

Температуру тела животных можно измерять также при помощи аппарата Мищука или контактными электротермометрами. Описание работы этих приборов приложено к каждому аппарату.

РЕГИСТРАЦИЯ ДЫХАНИЯ

Изменение частоты и ритма дыхания является постоянным признаком в клинической картине отравления многими токсическими веществами. Особенно часто это наблюдается при действии больших доз вещества в остром опыте, но и в хроническом опыте можно в ряде случаев выявить изменения характера дыхания. Изменения частоты и ритма дыхания, кроме вызванных действием токсических веществ, могут иметь место и при интеркуррентных заболеваниях дыхательных путей.

Дыхание у здоровых лабораторных животных должно быть бесшумным. Наличие при дыхании каких-либо звуков сигнализирует о заболевании дыхательных путей. Так, хрипящее дыхание бывает у кроликов при бронхопневмонии. При инфекционном катаре у мышей и крыс первым симптомом заболевания служат появление так называемого «чирликанья». Этот звук напоминает быстрое, тихое щелканье зубами, но отличается от хрипов. Насморк и ряд других симптомов появляются позднее (П. П. Сахаров и др.).

Для контроля за состоянием дыхательных органов прибегают к аускультации.

Частота и ритмичность дыхания у животных, особенно мелких грызунов, весьма лабильны. Это обстоятельство затрудняет подсчет числа вдохов. Чтобы получить более достоверные результаты, надо дать возможность животному успокоиться, а затем производить подсчет дыхания за короткий промежуток времени, например 10—15 секунд, пока животное находится в более или менее спокойном состоянии. Дыхание подсчитывают по движению грудной клетки или крыльев носа. У мышей дыханию грудной клетки или крыльев носа сосчитать его трудно. Наиболее распространенным способом объективной регистрации дыхания является пневматическая запись (пневмограммы) через резиновую манжетку (для кроликов и кошек манжетка от тонометра, для крыс небольшой тонкостенный баллон) и капсулу Маррея. Известен и ряд спо-

собов электрической регистрации дыхания (в качестве датчика используют пьезоэлемент, телефонную мембрану и т. п.).

РЕГИСТРАЦИЯ ПУЛЬСА

Изменения пульса бывают более или менее выраженными при проведении острого опыта, в хроническом же опыте с воздействием пороговых доз яда они обычно не наблюдаются. Более тонким тестом служит выявление изменений пульса после применения каких-либо нагрузок, вызывающих усиленную деятельность сердца. Сюда относится, например, усиленная мышечная деятельность (бег в колесе, подъем тяжестей и т. п.), увеличение температуры внешней среды, введение вегетотропных веществ и т. п. Определение пульса после нагрузки может выявить такие нарушения, которые в обычных условиях остаются компенсированными.

Пульс у животных, так же как и дыхание, лабилен, поэтому подсчет его лучше производить в короткие промежутки времени (10—15 секунд). Число ударов сердца у мелких грызунов (мышей, крыс), находящихся в свободном состоянии, определить трудно. Пульс у более крупных животных (кроликов, кошек, собак) чаще подсчитывают на бедренной или плечевой артерии. У кроликов и кошек можно сосчитать сердечные сокращения, положив руку на грудную клетку в области сердечного толчка и слегка сжав грудную клетку. Животное при этом фиксируют другой рукой.

Начинающие экспериментаторы часто испытывают затруднения с подсчетом пульса, который у многих животных довольно част. В таких случаях можно прибегнуть к следующему приему. Нащупав пульс, экспериментатор в определенный промежуток времени дублирует частоту ударов пульса, нажимая на клавишу какого-либо регистрирующего прибора (например, для подсчета лейкоцитарной формулы).

В настоящее время создаются точные приборы, позволяющие одновременно определять число дыхательных движений и частоту пульса. К сожалению, в большинстве случаев эти приборы не вышли еще из стадии изготовления опытных образцов и не поступили в широкую продажу. Физиологической лабораторией Научно-исследовательского института гигиены труда и профзаболеваний

имени Ф. Ф. Эрисмана предложен пневмопульсотох-метр (автор С. А. Полторак), который может быть ис-пользован при работе с животными. Прибор позволяет измерить частоту пульса от 30 до 240 ударов в минуту при помощи специального датчика, помещенного на ухо животного. Частота дыхания учитывается по количеству отклонений стрелки прибора в минуту. В качестве дат-чика дыхания использован принцип оценки частоты и амплитуды дыхания по разнице температуры вдыхаемо-го и выдыхаемого воздуха. С этой целью в датчике при-менен малоинерционный термистор, предложенный со-трудниками института П. И. Гуминером и др.

Показатели дыхания, пульса и температуры у животных

Лабильность показаний дыхания, пульса и темпера-туры у лабораторных животных, а также, возможно, неодинаковые условия при определении этих показате-лей привели к тому, что у разных авторов фигурируют различные цифры. В табл. 5 мы приводим данные, кото-рые встречаются у большинства авторов.

Т а б л и ц а 5

Количественные показатели числа дыханий,
пульса (в минуту) и температуры тела у
лабораторных животных (по А. И. Метелкину,
К. Л. Ковалевскому, П. П. Сахарову)

Вид живот-ных	Число дыханий	Частота пульса	Температура тела (в гра-дусах)
Мыши	350	520—780	37—39
Крысы	60—80 120*	180—250	38,5—39,5
Морские свинки	80—85	240—300 150*	37,8—38,5 37,8—39,5*
Кролики	50—60	120—140	38,5—39,5
Кошки	20—30	100—120	37,5—39,5
Собаки	12—24	70—150	38—39

П р и м е ч а н и е. Звездочкой отмечены числа, отличающиеся от приводимых Ковалевским и Саха-ровым.

Пользуясь табл. 5, не следует забывать, что приведенные показатели могут изменяться в зависимости от возраста, пола животных, а также от сезона года, условий содержания и т. п.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГАЗООБМЕНА (ПОТРЕБЛЕНИЯ КИСЛОРОДА)

Изменения в потреблении кислорода являются хорошим тестом для оценки токсичности промышленных ядов (Н. С. Правдин). Для определения потребления кислорода у лабораторных животных предложено много различных приборов (например, аппарат Крога и его модификации, установка Р. И. Веселкина для кроликов). Наиболее простым является прибор Миропольского, применяемый для опытов с мышами и крысами. Прибор состоит из бюретки с трехходовым краном, куда вводится кислород, баллона, наполненного водой, и небольшого водяного манометра. Бюретка при помощи резиновых трубок соединяется с камерой для животных (небольшой эксикатор для крыс, специальный небольшой сосуд для мышей). Для поглощения углекислоты в камеру помещена натронная известь.

Бюретку заполняют водой из баллона, затем переключают трехходовой кран, закрывая вход в баллон и открывая доступ кислороду, который подается из кислородной подушки. Кислород заполняет бюретку, вытесняя воду, вытекающую через специальный кран на конце бюретки. После заполнения бюретки кислородом кран закрывают. Вновь переключают трехходовой кран, закрывая доступ кислороду из подушки, и включают в систему баллон и резиновые трубки, соединенные с камерой, где находится животное. Убыль кислорода при дыхании возмещается поступлением в бюретку воды из баллона. Колебания уровня водяного манометра показывают величину давления кислорода в системе по отношению к наружному давлению (рис. 8). За определенный промежуток времени учитывают потребление кислорода животными (например, у мышей за 5 минут, у крыс за 1 минуту). В наших опытах в среднем потребляли кислород за одну минуту: мыши-самцы 1,8—2,7 мл, мыши-самки 1,6—1,9 мл. Крысы потребляют кислород в среднем 6,3—9,7 мл в минуту, но у отдельных животных

5
встречались и значительно более низкие (3 мл) и более высокие (до 12 мл) цифры. Следует отметить, что на потребление кислорода влияют не только внутренние,

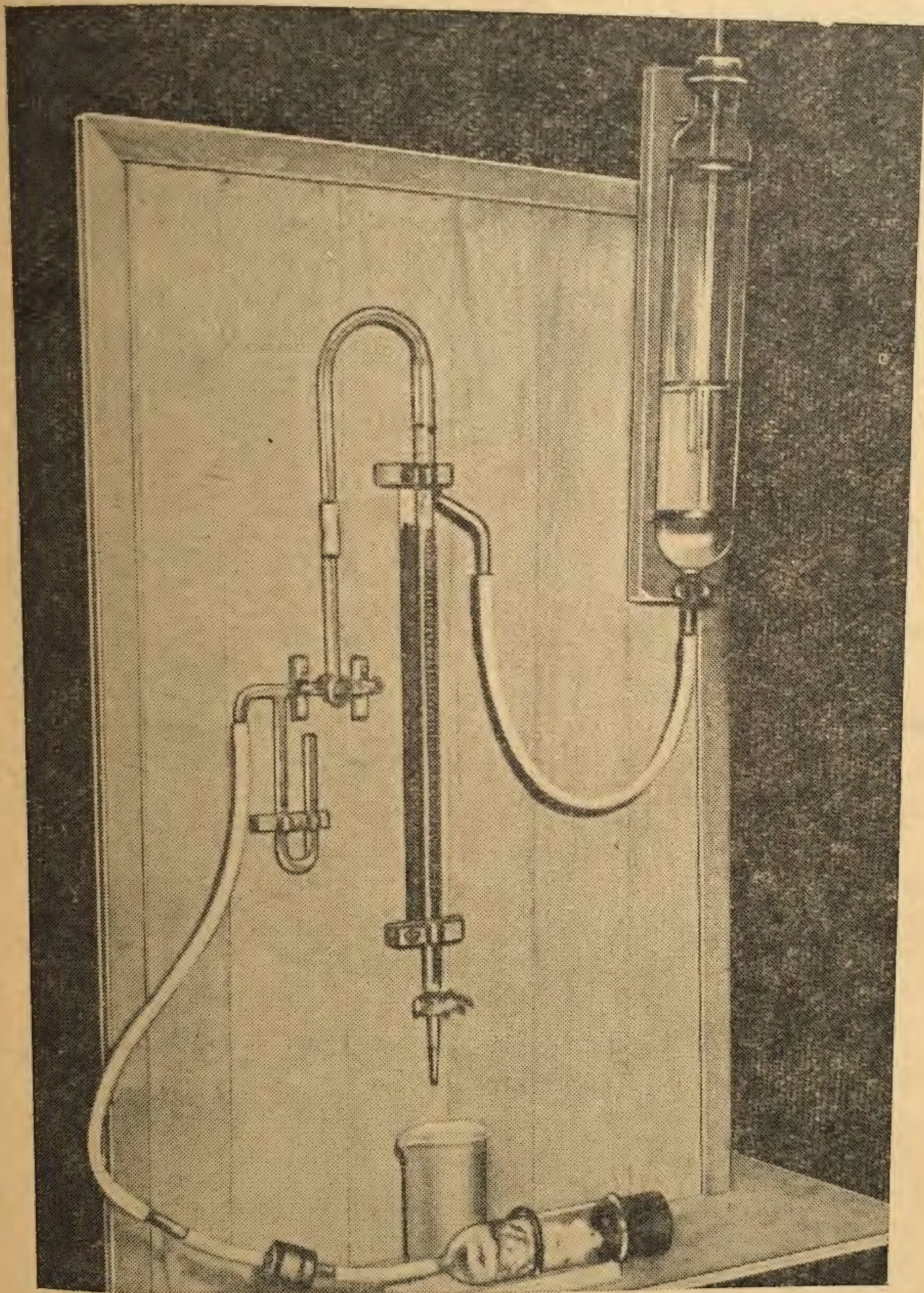


Рис. 8. Прибор Миропольского для определения потребления кислорода мышами, крысами и морскими свинками.

но и внешние факторы (время года, температура и влажность воздуха и т. п.), поэтому показатели подопытных животных необходимо сравнивать с таковыми конт-

рольных животных, полученными в одинаковых условиях. Исследование потребления кислорода можно производить однократно или в динамике по методике, разработанной И. П. Лукиной. Потребление кислорода при этом определяют в течение 6—7 часов, каждый час помещая животное в камеру на несколько минут, нужных для отсчета количества вдыхаемого кислорода. В результате получается кривая потребления кислорода за этот промежуток времени. Для угашения ориентировочной реакции с животными проводят контрольные опыты, что способствует выработке более стабильного фона. Исследование потребления кислорода в динамике иногда дает возможность выявлять изменения, возникающие в результате воздействия на организм малых доз токсических веществ.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ

Ряд промышленных ядов, помимо специфического действия, может вызывать понижение общей сопротивляемости организма к болезнетворным (в частности, инфекционным) агентам, что связано с подавлением факторов иммунологической защиты, отражающих состояние общей реактивности организма.

Достаточно тонким является рекомендуемый В. К. Навроцким тест на активность и динамику выработки антител (агглютининов) после иммунизации животных (брюшнотифозной вакциной). Наблюдаемые при ряде интоксикаций у животных изменения идут по линии уменьшения как максимального титра агглютининов, так и продолжительности его сохранения на высоком уровне (по сравнению с контролем). Соответствующие нарушения отмечены при действии бензола, анилина, нитробензола, дихлорэтана, тетрахлорметана, тетраэтилсвинца. При исследовании влияния на организм малых доз окиси углерода, сернистого газа и паров бензина этот тест оказался настолько чувствительным, что автор использовал его в качестве критерия для установления предельно допустимых концентраций на первом этапе нормирования.

Важным индикатором состояния общей реактивности организма служит интенсивность фагоцитоза. Изменения фагоцитарной активности лейкоцитов обнаружены

при интоксикациях трехсернистым мышьяком, свинцом, бензином, бензолом, тетраэтилсвинцом, тринитротолуолом и т. д. В основном они выражались в угнетении фагоцитоза, однако в отдельных случаях (например, при легкой интоксикации свинцом) удавалось наблюдать повышение фагоцитарного индекса (И. Г. Фридлянд).

Методика оценки активности фагоцитарной реакции имеет много модификаций. В качестве тест-микробов чаще всего используют культуры золотистого стафилококка, бациллы Фридмана, стрептококка. Следует подбирать мало патогенные для исследуемого вида животных микроорганизмы, ибо в противном случае уровень фагоцитоза может оказаться слишком низким независимо от действия токсического вещества. Все исследования, естественно, надо проводить с одним видом и штаммом микроорганизмов.

Концентрация бактериальной взвеси может несколько колебаться в зависимости от вида микробов, но не должна быть очень большой (1—1,5 млрд. микробных тел, или 10—15 ед. по Государственному стандарту мутности) и во всех опытах одинаковой. При большой концентрации изменяется течение фагоцитоза (В. К. Берзинь). Мы пользовались таким соотношением: 0,05 мл 5% цитрата натрия вносили в центрифужную пробирку, затем туда же помещали кровь в количестве 0,1 мл и содержимое пробирки перемешивали. В смесь вносили 0,1 мл взвеси культуры золотистого стафилококка (односуточная культура с густотой 1 млрд. в 1 мл). В. К. Берзинь считает возможным брать все компоненты по 0,02 мл. Известна также пропись: 0,02 мл раствора цитрата, 0,08 мл крови и 0,05 мл взвеси культуры (соотношение 0,25:1:0,625) (В. Е. Миклашевский).

Пробы помещают на 30 минут в термостат при температуре 37°. После этого их центрифугируют в течение 3 минут со скоростью 1000—1200 об/мин. Более длительное центрифугирование может деформировать клетки. Некоторые авторы вообще отказываются от центрифугирования. В этом случае в мазке бывает мало элементов, что затрудняет подсчет, но зато возможно одновременно подсчитывать лейкоцитарную формулу.

После центрифугирования жидкость до максимума отсасывают пипеткой. Затем тщательно перемешивают содержимое и делают мазки (3—5 препаратов). Можно

пастеровской пипеткой снять лейкоцитарную пленку и из нее сделать мазки. Препараты должны быть все одинаковой толщины, равномерные и по возможности тонкие. При различной толщине мазков получаются неоднородные результаты.

Для фиксации мазков используют реактивы, не травмирующие клетки (например, метанол или смесь Никифорова). Окраску производят различными способами (синькой Лефлера, азур-эозином, по Романовскому).

Следует отметить, что на фагоцитарную активность лейкоцитов могут влиять различные факторы внешней среды. Так, при высокой температуре воздуха или при ее резких колебаниях фагоцитарная активность может резко снижаться, доходя почти до нулевой (И. Г. Векслер).

Показателями фагоцитоза являются: фагоцитарная активность (процент фагоцитирующих лейкоцитов), фагоцитарное число (т. е. среднее число микробов, фагоцитированных одной клеткой).

Обобщенным показателем реакции является фагоцитарный индекс, вычисляемый путем умножения процента фагоцитирующих лейкоцитов на фагоцитарное число. Например, из 100 клеток фагоцитируют 40 (процент фагоцитоза равен 40); всего захвачено 70 микробов (фагоцитарное число $= \frac{70}{100} = 0,7$); фагоцитарный индекс $= 40 \times 0,7 = 28,0$.

По другому способу оценки фагоцитарной активности лейкоциты делят на группы: а) без фагоцитоза; б) с фагоцитозом от 1 до 20 микробов; в) с фагоцитозом от 21 до 40 микробов; г) с фагоцитозом свыше 40 микробов.

Каждая группа имеет собственный постоянный множитель (коэффициент): а — 0, б — 1, в — 2, г — 3. Количество лейкоцитов каждой группы перемножают на соответствующий коэффициент и полученные произведения складывают. Сумма произведений является цифровым показателем реакции.

Пример расчета: число лейкоцитов без фагоцитоза (группа а) — 5, число лейкоцитов с фагоцитозом от 1 до 20 (группа б) — 10, от 21 до 40 (группа в) — 6, свыше 40 (группа г) — 4.

$5 \times 0 = 0$; $10 \times 1 = 10$; $6 \times 2 = 12$; $4 \times 3 = 12$; индекс равен $0 + 10 + 12 + 12 = 34$ (В. С. Тарасова).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ В УСЛОВИЯХ КИСЛОРОДНОГО ГОЛОДАНИЯ

В ряде случаев ценные показатели дает проба с определением продолжительности жизни в условиях кислородного голодания. Подопытную и контрольную мышь или крысу (обязательно одинакового веса) помещают в небольшую, герметически закрытую банку и определяют время гибели одного и другого животного. Поведение подопытного и контрольного животного в условиях кислородного голодания часто бывает различным, так же как и время их гибели. Так, при отравлении мышей этанолом в дозах от 11 до 22 мл/кг во всех случаях увеличивалась продолжительность жизни подопытных мышей в среднем на 11—18 минут по сравнению с контрольными животными.

Изменение времени гибели подопытных животных определяется рядом факторов. Сюда относится изменение реактивности организма под воздействием яда, а вследствие этого и чувствительности его к аноксемии, изменение степени активности окислительных процессов и т. п.

ИССЛЕДОВАНИЕ РАБОТОСПОСОБНОСТИ

Одним из ранних проявлений действия очень многих ядов является понижение работоспособности как результат минимальных нарушений ряда физиологических функций нервной системы и биохимических процессов, протекающих в организме (Н. С. Правдин). Поэтому методы определения изменения работоспособности являются тонкими показателями действия малых доз яда.

Изучение работоспособности животных проводится различными методами. Так, для более крупных животных можно использовать вынужденное перемещение их в колесе, которое вращают. Для мышей и крыс некоторые авторы (Н. И. Василенко) применяют метод подвешивания. При этом учитывается время, которое может провисеть животное, держась передними лапками за вертикально укрепленную опору. Часто применяется проба с учетом продолжительности плавания. Эта проба, приспособленная для целей токсикологии М. И. Рыловой, с успехом используется в токсикологических лаборатори-

ях. Оценкой работоспособности служит время плавания мышей до полного утомления (т. е. погружения на дно) в воде с температурой 32° (лучше 38—39° — М. И. Рылова) с нагрузкой в 5% от веса мыши. Груз (металлические трубочки, стеклянные бусинки или дробинки, привязанные к маленьким отрезкам резиновой трубки) надевают на хвост ближе к корню. Для плавания используют ведро, бак или цинковый ящик с высотой столба воды 18—20 см. Мышей подбирают примерно одного веса. Для сравнения служат контрольные мыши. Увеличение или уменьшение температуры воды изменяет величину времени плавания мышей, но соотношение между временем плавания подопытных мышей и контрольных обычно сохраняется. Некоторые авторы рекомендуют после соответствующей пробы отобрать для опыта таких животных, которые в норме могут удержаться на воде не менее 15 минут. У крыс также можно изучать работоспособность в пробе с плаванием, только сосуд с водой должен быть больше.

ПРОБЫ С ИЗМЕНЕНИЕМ РЕЖИМА СУЩЕСТВОВАНИЯ ЖИВОТНЫХ

Изменение условий существования животных может быть применено как методический прием для выявления действия малых доз исследуемых токсических веществ. Этот прием основан на том, что новые, непривычные для организма факторы внешней среды, являющиеся для него функциональной нагрузкой, нарушая сложившиеся системы сложнорефлекторных регуляций, на какое-то время затрудняют осуществление корой головного мозга ее роли «распорядителя и распределителя всей деятельности организма». В этот момент и могут проявляться скрытые явления интоксикации. Методы функциональных нагрузок получают все большее распространение в клинических и лабораторных исследованиях.

Приведем некоторые из применяемых для этой цели приемов. Чувствительным тестом является учет скорости восстановления веса животных после голодания. Кроликов на 3 дня лишают пищи, оставляя им только воду. Следующие 3 дня дают половинный рацион, а с 7-го дня дают пищу в обычном количестве. Кроликов взвешивают

пер
дук
вот
изв
вос
ны
вре
(ов
ся
ток
лен
тар

зы
ядс
зав
(П
сви
дал
Но
с т
ра
впл
сов
изм
зар

хар
онт

ка
ус
По
жи
нут

фа
си
гал
ну
но
ра
но

перед началом опыта, на 4-й и 7-й день, а затем каждую неделю. При проведении этой пробы на крысах животных лишают пищи на 2 суток, также регулярно производя взвешивание. Опыт позволяет сравнить быстроту восстановления веса подопытных и контрольных животных. Некоторые авторы (М. Л. Рылова) на длительное время лишают животных какого-либо компонента пищи (овощей, мяса, молока и т. д.). Этот прием также является чувствительным для выявления действия малых доз токсических веществ. Но в клинической картине отравления некоторые симптомы могут зависеть и от алиментарных нарушений.

В ряде случаев изменение температуры воздуха вызывает проявление симптомов отравления от таких доз ядов, которые до этого казались подпороговыми. Это зависит от малоустойчивой терморегуляции грызунов (П. П. Сахаров). Так, при введении крысам тетраэтилсвинца в дозе 0,00001 мг/кг в течение 3 месяцев не наблюдалось изменений условнорефлекторной деятельности. Но когда пришлось работать с животными в помещении с температурой воздуха 12—14°, у крыс развились выраженные изменения условнорефлекторной деятельности вплоть до выпадения положительных условных рефлексов. У контрольных крыс значительно более слабые изменения наступили только через 2 недели (О. Н. Елизарова).

Более высокая чувствительность животных к ядам характерна для периода беременности и ранних стадий онтогенеза (подрастающие, молодые животные).

На устойчивость к ядам влияют и такие факторы, как усталость. Так, В. Г. Лаппо показал, что утомление усиливает действие, например, такого яда, как урсол. После введения летальной дозы яда продолжительность жизни у мышей, подвергавшихся утомлению, была 12 минут, а у контрольных — 29 минут.

Можно применять также воздействие многих других факторов внешней среды. Так, в опытах сотрудника токсикологической лаборатории В. Г. Лаппо, мыши подвергались действию звонка на время от 20 секунд до 5 минут. После этого животным вводили максимально переносимую дозу цианистого калия. Оказалось, что звуковое раздражение значительно усиливает токсичность указанного вещества, вызывая гибель 50% животных.

ФУНКЦИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Изучение биотоков сердца

Изучение биотоков сердца, проводимое при помощи электрокардиографической методики, в ряде случаев может показать изменения их под влиянием воздействия промышленных ядов. Изучение биотоков сердца производится с помощью обычных электрокардиографов, которые применяются в клинической практике. Правила устройства прибора и обращения с ним изложены в инструкции, прилагаемой к каждому экземпляру прибора, поэтому в данной книге они не приводятся. Проведение регистрации биотоков сердца и расшифровка полученных данных изложены в специальных руководствах [Л. А. Водолазский; Е. Лепешкин (E. Lepeshkin)].

Изменения биотоков сердца также выявляются более резко после применения нагрузок, аналогичных указанным выше.

Некоторые экспериментаторы при помощи электрокардиографа определяют также частоту и ритм пульса.

Измерение кровяного давления

Определение кровяного давления в санитарно-токсикологическом исследовании производится только бескровным методом. У собак для этой цели служит особый плетизмограф, сконструированный в виде «сапога» с двойными стенками, заполненного водой. В «сапог» опускается нога собаки, после чего прибор герметизируется. Изменения в воздушной прослойке, находящейся между стенками прибора, регистрируются через мареевскую капсулу на кимографе. У кроликов можно определять кровяное давление, предварительно выведя в кожный лоскут сонную артерию (В. М. Чернов, А. И. Буланцева и соавторы). Для измерения кровяного давления у крыс применяют хвостовой плетизмограф, разработанный В. М. Черновым на основе предложений И. Вильямса, Т. Гаррисона и А. Грольмана (I. R. Williams, T. R. Harrison and A. Grollman). Крысу помещают в небольшой станок (см. главу 1), хвост ее через отверстие в задней стенке станка выводят наружу. На корень

хвоста накладывают металлическую или стеклянную манжетку, соединенную со сфигмоманометром. Остальную часть хвоста помещают в плетизмометр, заполненный водой и соединенный со стеклянным водяным манометром. После того как крыса посажена в станок и прибор приведен в рабочую готовность, на водяном манометре появляются характерные малые пульсовые ос-

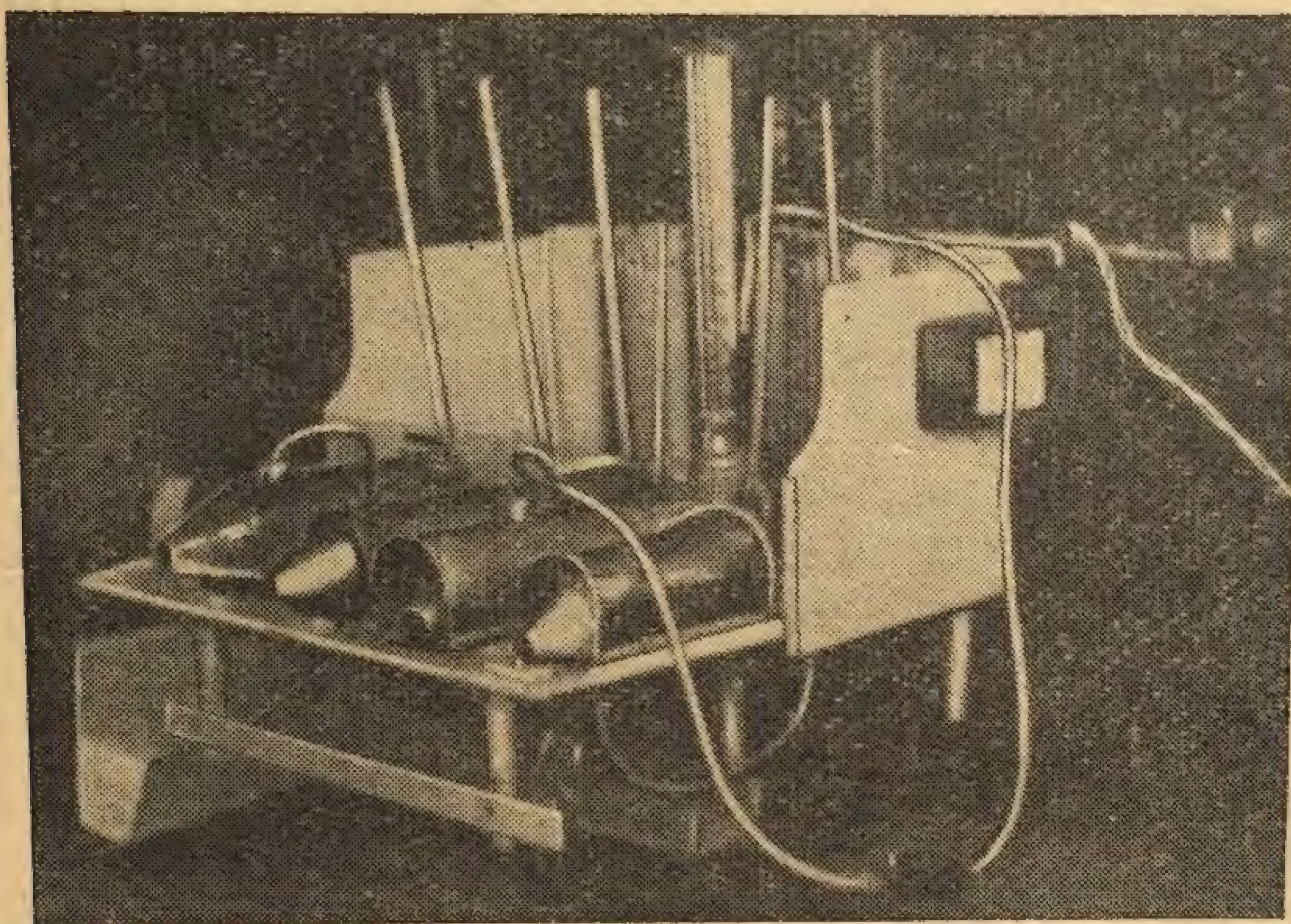


Рис. 9. Прибор Когана для серийного измерения кровяного давления у крыс.

цилляции (крупные осцилляции, синхронные с дыхательным ритмом, в расчет не берут). Затем нагнетают воздух в манжетку до исчезновения осцилляций. С постепенным уменьшением давления в манжетке осцилляции вновь появляются. Уровень ртути в ртутном манометре в момент появления осцилляций показывает давление, соответствующее систолическому кровяному давлению (В. М. Чернов).

Для работы удобен аппарат А. Х. Когана, сконструированный для 5 крыс, с постоянным подогревом плетизмометров (рис. 9). Кровяное давление у крыс, по данным В. М. Чернова и нашим, колеблется в пределах 80—110 мм рт. ст., по данным Вильямса оно несколько выше — до 130 мм.

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ

Изменения гемопоэза в той или иной степени являются почти постоянным спутником отравления токсическими веществами. Часто они носят специфический характер. Исследование периферической крови в динамике позволяет улавливать ранние сдвиги гемопоэза. При изучении действия ядов, для которых есть соответствующие предпосылки (например, химическая принадлежность к группе веществ, влияющих на гемопоэз), исследование производится детально. Так, для выявления наличия анемии, кроме определения процента гемоглобина и числа эритроцитов, необходимо знать изменения в числе ретикулоцитов, осмотическую стойкость эритроцитов, выявить появление молодых форм красной крови и т. д. Действие ядов часто характеризуется появлением различных включений в эритроцитах (тельца Гейнца), в лейкоцитах («токсическая» зернистость нейтрофилов) и т. п. На эти изменения также следует обращать вни-

Показатели периферической крови
(по данным П. П. Сахарова, А. И. Метелкина,

Вид животного	Гемоглобин (среднее значение)	Колебания, %	Количество эритроцитов, млн.		Количество лейкоцитов, тыс.	
			среднее	колебания	среднее	колебания
Мыши	100	94—106	9,0	7,89—11,7	7,5	7,5—13,0
Крысы	105	65—110	8,0	5,2—14,0	15,0	4,8—15,2
Морские свинки	100	82—125	5,5	6—9,3	12,0	4,8—15,2
Кролики	65	63—79,3	5,0	8,0—9,0	9,8	5,0—16,0
Кошки		60—90		3,6—6,0		7,0—11,3
Собаки		70—80		3,1—6,0		12,0—18,0
				4,3—7,0		9,0—10,0
				7,0—8,0		
				6,0—6,5		

мание. Некоторые токсические вещества влияют на вязкость крови, быстроту свертывания, РОЭ и т. п. Эти изменения тоже надо изучать. При работе с метгемоглобинообразующими токсическими веществами определяют количество метгемоглобина в крови.

Для контроля за состоянием здоровья лабораторных животных достаточно клинического анализа периферической крови, куда входит определение количества гемоглобина, количества эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы. Кровь берут всегда из одного и того же места, так как показатели периферической крови, взятой на разных участках тела, у животных различны. Особенно это касается числа лейкоцитов и лейкоцитарной формулы (П. П. Сахаров, В. А. Покровский и соавторы). Время взятия крови для анализа также должно быть всегда одинаковым. Лучше всего производить исследование утром перед кормлением животных. Кровь для мазков желательно брать в самом начале, так как процедура взятия крови может изменить лейкоцитарную формулу, в частности у крыс это приводит к сильному

Таблица 6

лабораторных животных
В. Н. Никитина, Е. О. Фрейдфельд и др.)

Лейкоцитарная формула					
базофилы, %	эозинофилы, %	нейтрофилы (спец. гранулоциты), %	лимфоциты, %	моноциты, %	переходные формы, %
0,5	0,5—2,5	38—45,5	27—68,	0,5	2—5,5
0,5	0,2—2,0	22—40	53—75, большие и малые	0,1	0—2
0,1—0,7	6,0—7,5	35,5—44,5	43,7—53,4	5—9,7	
4,4—5	1—1,4	30—42,9	42,2—60	4—5,5	
0,1—0,5	4	58—68,5	37,7—40	1,5—2,5	
0,5—1	3—6	61—70	26	4—7	
	5		20—25		
			15,5		

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНЫ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КРОВИ

Изменения гемопоэза в той или иной степени являются почти постоянным спутником отравления токсическими веществами. Часто они носят специфический характер. Исследование периферической крови в динамике позволяет улавливать ранние сдвиги гемопоэза. При изучении действия ядов, для которых есть соответствующие предпосылки (например, химическая принадлежность к группе веществ, влияющих на гемопоэз), исследование производится детально. Так, для выявления наличия анемии, кроме определения процента гемоглобина и числа эритроцитов, необходимо знать изменения в числе ретикулоцитов, осмотическую стойкость эритроцитов, выявить появление молодых форм красной крови и т. д. Действие ядов часто характеризуется появлением различных включений в эритроцитах (тельца Гейнца), в лейкоцитах («токсическая» зернистость нейтрофилов) и т. п. На эти изменения также следует обращать вни-

Показатели периферической крови
(по данным П. П. Сахарова, А. И. Метелкина,

Вид животного	Гемоглобин (среднее значение)	Колебания, %	Количество эритроцитов, млн.		Количество лейкоцитов, тыс.	
			среднее	колебания	среднее	колебания
Мыши	100	94—106	9,0	7,89—11,7 5,2—14,0	7,5	7,5—13,0 4,8—15,2
Крысы	105	65—110	8,0	6—9,3 8,0—9,0	15,0	4,8—15,2
Морские свинки	100	82—125	5,5	3,6—6,0	12,0	5,0—16,0
Кролики	65	63—79,3	5,0	3,1—6,0 4,3—7,0	9,8	7,0—11,3
Кошки		60—90		7,0—8,0		12,0—18,0
Собаки		70—80		6,0—6,5		9,0—10,0

вание. Некоторые токсические вещества влияют на вязкость крови, быстроту свертывания, РОЭ и т. п. Эти изменения тоже надо изучать. При работе с метгемоглобинообразующими токсическими веществами определяют количество метгемоглобина в крови.

Для контроля за состоянием здоровья лабораторных животных достаточно клинического анализа периферической крови, куда входит определение количества гемоглобина, количества эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарной формулы. Кровь берут всегда из одного и того же места, так как показатели периферической крови, взятой на разных участках тела, у животных различны. Особенно это касается числа лейкоцитов и лейкоцитарной формулы (П. П. Сахаров, В. А. Покровский и с соавторами). Время взятия крови для анализа также должно быть всегда одинаковым. Лучше всего производить исследование утром перед кормлением животных. Кровь для мазков желательно брать в самом начале, так как процедура взятия крови может изменить лейкоцитарную формулу, в частности у крыс это приводит к сильному

Таблица 6

лабораторных животных

В. Н. Никитина, Е. О. Фрейдфельд и др.)

Лейкоцитарная формула					
базофилы, %	эозинофи- лы, %	нейтрофилы (спец. грану- лоциты), %	лимфоциты, %	моноциты, %	переходные формы, %
0,5	0,5—2,5	38—45,5,	27—68,	0,5	2—5,5
0,5	0,2—2,0	22—40	53—75, боль- шие и малые	0,1	0—2
0,1—0,7	6,0—7,5	35,5—44,5	43,7—53,4	5—9,7	
4,4—5	1—1,4	30—42,9	42,2—60	4—5,5	
0,1—0,5	4	58—68,5	37,7—40	1,5—2,5	
0,5—1	3—6 5	61—70	26 20—25 15,5	4—7	

увеличению в последних пробах полинуклеаров (П. П. Сахаров).

Мы не останавливаемся на технике проведения анализа периферической крови, так как она подробно описана в специальных руководствах [А. А. Кудрявцев, В. Н. Никитин, В. А. Покровский, С. Шермер (S. Schermer)].

Из новых приборов, предложенных для анализа красной крови, заслуживает внимания эритрогемометр, принцип работы которого основан на фотоэлектрическом измерении степени погашения световых волн определенной длины взвесью эритроцитов и раствором гемоглобина. Прилагаемые к указанному прибору инструкции созданы с учетом условий клинического исследования крови. Однако нашими сотрудниками разработана техника его использования и для анализа крови у лабораторных животных (В. Н. Тугаринова, В. А. Дружинина, Н. П. Алексеева). В последнее время получили распространения приборы для автоматического подсчета эритроцитов и лейкоцитов — целлоскопы.

Показатели периферической крови у лабораторных животных очень вариabильны, особенно у грызунов. Тем не менее мы считаем полезным привести эти показатели. В табл. 6 включены наиболее часто встречающиеся данные.

Как видно из табл. 6, в большинстве случаев показатели крови варьируют в сравнительно больших масштабах.

Имеющиеся отклонения могут зависеть от заболеваний, часто даже не поддающихся определению, которые перенесли эти животные, от наличия глистов, встречающихся у большинства подопытных животных, от возраста животных, условий содержания, времени года и даже времени суток. У крыс имеют значение и особенности тканей хвоста (П. П. Сахаров).

Учитывая индивидуальную вариabильность периферической крови, необходимо иметь показатели ее у каждого животного, чтобы возможно было учесть все характерные особенности. Если полученные при дву-тремякратном исследовании цифры не очень резко отклоняются от средних значений и являются относительно постоянными, они могут быть приняты за норму для данного животного.

ЗНАЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И МОЧИ

Биохимические исследования крови занимают очень большое место в санитарно-токсикологическом эксперименте, поскольку действие токсических веществ на организм вызывает иногда очень рано сдвиги химического состава крови, которые можно обнаружить при правильном выборе тестов, основанном на учете специфики действия изучаемого токсического вещества. Литературные данные, клиническая картина отравления, патологоанатомическое исследование помогают примерно наметить круг таких показателей. Выявлено, в частности, что изменение активности холинэстеразы в сыворотке крови представляет чувствительный тест при изучении действия фосфорорганических соединений и многих других токсических веществ. При нарушении окислительных процессов и углеводной функции печени неплохие результаты дают исследования изменения количества каталазы и содержания сахара в крови. В меньшей степени все сказанное относится к изменениям биохимических показателей, которые характерны (в отчетливой степени) для более ограниченного круга интоксикаций.

При биохимических исследованиях применяют общепринятые методы, описанные в специальной литературе (В. Е. Предтеченский, В. С. Асатиани, М. Л. Петрунькин и А. М. Петрунькина, С. Д. Балаховский и Н. С. Балаховский и др.). Ценным пособием является работа В. С. Асатиани «Биологические таблицы», где собраны нормативы многих биохимических показателей у различных лабораторных животных. Здесь мы приводим только данные о количестве сахара в крови, так как этот показатель оказывается достаточно чувствительным при действии многих промышленных ядов.

Количество сахара в крови в норме у различных животных, по данным В. С. Асатиани (на 100 мл крови): у крыс — 66 мг, у морских свинок — 105 мг, у кроликов — 85 мг, кошек — 75 мг, у собак — 60 мг. Х. С. Коштоянц нашел в крови более значительное содержание сахара: у кошек — 110—120 мг%, у кроликов — 150—160 мг%. По нашим данным, у кроликов количество сахара колеблется в значительных пределах, но чаще бывает от 90 до 119 мг%. Так, в 100 определениях количества сахара

в крови у нормальных кроликов натошак были получены следующие значения количества сахара в крови:

60—69 мг% — 2 случая	110 — 119 мг% — 23 случая
70—79 » — 4 »	120 — 129 » — 7 случаев
80—89 » — 9 случаев	130 — 139 » — 4 случая
90—99 » — 23 случая	140 — 149 » — 1 случай
100—109 » — 27 случаев	

На уровень сахара в крови влияет сезон года: содержание его до 100 мг% чаще встречалось в зимнее и весеннее время, а от 100 мг% и выше — летом и осенью. Сдвиги биохимических показателей крови и мочи отражают в первую очередь функции печени и почек.

Способы взятия крови и сбора мочи

Техника взятия проб крови

Для анализа кровь у морских свинок, кроликов, кошек и собак берут обычно из венозных сосудов уха: у морских свинок — из ушной вены, расположенной на дорзальной стороне уха, а у остальных животных — из краевой вены уха, расположенной по тонкому краю уха, прокалывая сосуд иглой от шприца. У мышей и крыс кровь берут обычно из хвоста, осторожно надрезая кончик хвоста острой бритвой. Нанесенная ранка после смазывания ее настойкой йода быстро заживает. Перед взятием крови хвост животных на несколько минут погружают в воду температурой 35—38° или 2—3 раза протирают эфиром.

В тех случаях, когда требуется большое количество крови, ее берут из яремной или бедренной вены. У крупных животных прокалывают сосуд иглой, а затем набирают кровь в шприц; у мелких животных приходится делать кожный разрез над сосудом и вскрывать его. Кровь можно брать и из других сосудов, например у собак из передней наружной плусневой вены, расположенной под кожей на наружной поверхности нижней трети голени. У крыс достаточное количество крови можно получить при вскрытии поверхностного верхнеколенного сосуда, лежащего на месте сгиба задней конечности в области колена. Вытекающая кровь собирается в кожном кармашке. Затем на сосуд накладывают лигатуру,

а на кожу — шов (П. П. Сахаров и др.). Мы не можем рекомендовать для хронического санитарно-токсикологического исследования, где надо максимально щадить животное, методы, связанные со вскрытием крупных сосудов, а также взятие крови из сердца.

Для взятия сравнительно большого объема крови из хвоста крысы удобен прибор, предложенный В. С. Гостевым. Прибор состоит из двух частей, соединенных шлифом (рис. 10). В переднюю его часть, шарообразно рас-

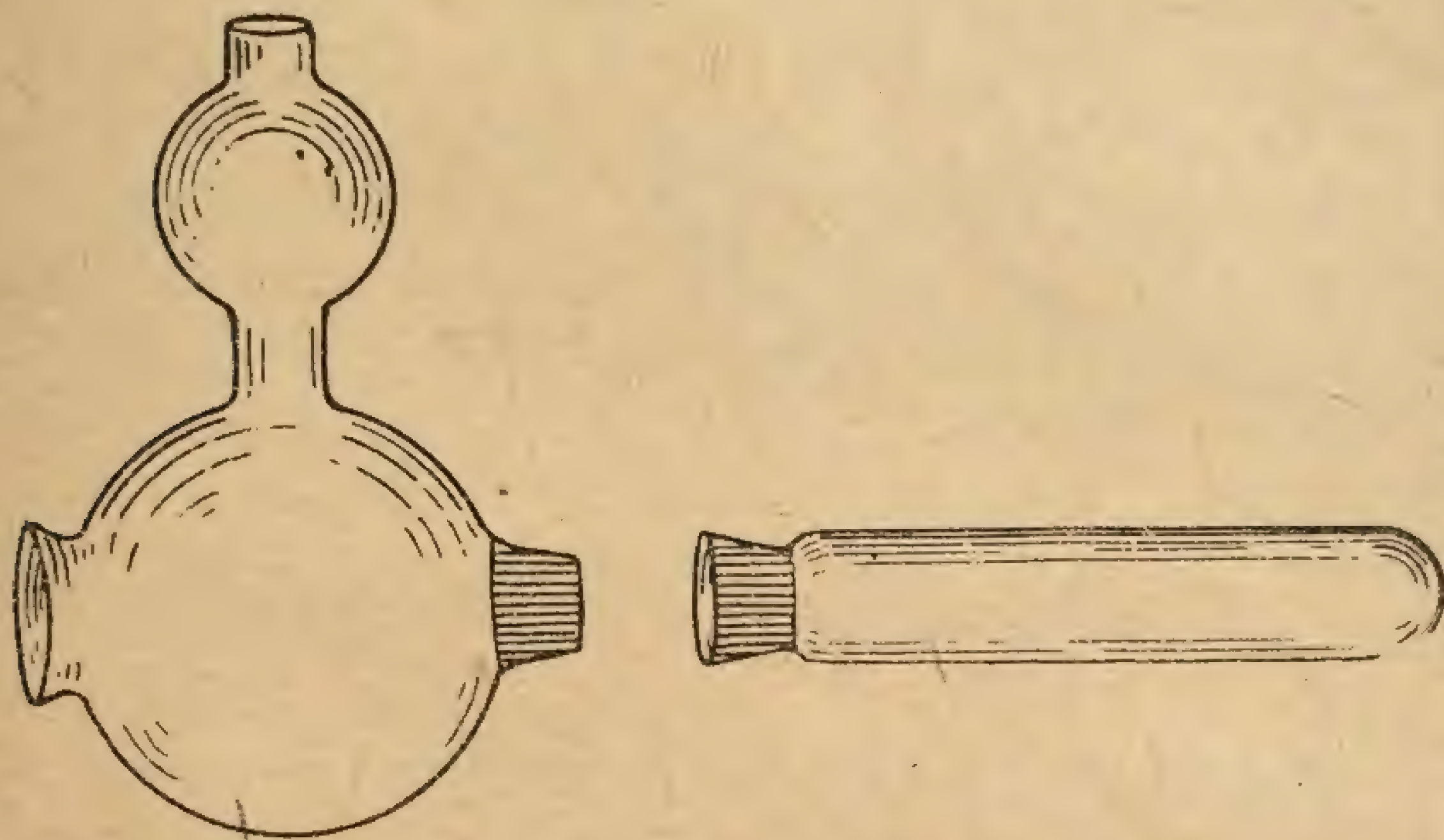


Рис. 10. Прибор Гостева для взятия крови из хвоста крыс.

ширенную, вставляется резиновая пробка с отверстием для хвоста крысы. Сбоку имеется отводное колено для присоединения прибора к водоструйному насосу. Задняя часть прибора имеет вид толстостенной пробирки. Хвост крысы предварительно опускают в теплую воду, затем осушивают и смазывают вазелином. Прибор надевают на хвост так, чтобы отверстие резиновой пробки приходилось ближе к корню последнего. Включается водоструйный насос. Через 1—1½ минуты хвост принимает синюшную окраску. Тогда снимают заднюю часть прибора, ножницами надрезают кончик хвоста, пробирку вновь надевают на шлиф и опять включают водоструйный насос. Под влиянием отрицательного давления в течение 2—3 минут можно получить у крысы 1—3 мл крови.

У мыши кровь можно получить следующим способом: мышь фиксируют на операционном столике спин-

кой вверх, оставляя свободной левую заднюю ногу. Большой палец этой ноги срезают и производят разрез расположенного в этом месте кровеносного сосуда. Если кровь из разреза не идет, производят массаж верхней части голени сверху вниз (П. П. Сахаров).

Сбор мочи у животных

Как указывалось выше, при проведении ряда исследований производят определение тех или иных веществ в моче. Для сбора мочи животных помещают в специальные обменные клетки. Пол обменных клеток лучше всего делать из стеклянных палочек. Воронки и сосуды для сбора мочи также должны быть стеклянными. Вместо обменных клеток для крыс и мышей можно использовать большие воронки, куда помещается подставка, на которой находится животное. Следует отметить, что некоторые собаки не дают мочи в обменных клетках, а у кроликов количество мочи может колебаться в значительных пределах.

Функциональные исследования печени

Функций печени, которая при пероральном поступлении токсических веществ в организм принимает на себя «первый удар», страдает при такого рода воздействиях весьма часто. В литературе описано свыше 500 методик, разработанных для выявления нарушений различных функций этого органа (роли в углеводном, белковом, жировом, пигментном, витаминном обмене, в свертываемости крови, обезвреживании токсических продуктов, выработке энзимов).

Изучая изменения функций печени под воздействием токсических веществ, нельзя ограничиваться какой-либо одной методикой, отражающей ту или иную функцию печени. Более целесообразно исследовать состояние по крайней мере двух-трех функций.

Широкое распространение в санитарно-токсикологических исследованиях получила *сахарная нагрузка*, проводимая обычно на кроликах. Эта проба позволяет оценить гликогенообразующую функцию печени. В качестве препарата для нагрузки чаще всего применяют галактозу; проба с глюкозой не подходит для функционального исследования печени, поскольку обмен глюкозы

регулируется также рядом других систем (нервной, эндокринной, мышечной и др.). При пероральной нагрузке галактозу вводят кроликам натошак в 20—40% растворе из расчета 1 г на 1 кг веса. Определение сахара в крови производится по методу Хагедорна — Иенсена. Пробы берут до и через разные промежутки времени после введения галактозы (например, через 30, 60, 120, 180 и 240 минут по М. П. Кончаловскому).

При анализе хода сахарной кривой учитывают следующие показатели: а) количество сахара в крови до нагрузки; б) время максимального подъема («пика») кривой после введения галактозы; в) «гипергликемический коэффициент», т. е. отношение показателя гликемии в момент «пика» (B) к исходным данным (A); иногда высчитывают так называемый коэффициент Бодуэна $\frac{B-A}{A}$; г) «постгипергликемический коэффициент»,

или «гипогликемический коэффициент» $\left(\frac{C}{A}\right)$, где C — самый низкий уровень сахара в крови в заключительной стадии опыта); д) время возвращения показателей гликемии к исходным цифрам.

При нормальной гипергликемии, вызванной введением галактозы, уровень сахара в крови быстро нарастает, достигая максимального подъема чаще к 30—60 минутам. Так, по нашим данным, из 100 определений максимальный уровень сахара наблюдался через 30 минут в 54 случаях, через 60 минут — в 33 случаях, через 120 минут — в 13 случаях. При воздействии токсических веществ время максимального подъема часто бывает сдвинуто на более поздние сроки («вправо»).

Гипергликемический коэффициент характеризует относительную величину подъема уровня сахара в крови. Этот показатель, так же как и все остальные, у здоровых кроликов дает довольно большие колебания, но чаще всего достигает цифр 1,40—1,89. Так, например, в 100 исследованиях величина гипергликемического коэффициента была:

1,10—1,19 . . . в 1 случае	1,60—1,69 . . . в 16 случаях
1,20—1,29 . . . » 6 случаях	1,70—1,79 . . . » 12 »
1,30—1,39 . . . » 6 »	1,80—1,89 . . . » 10 »
1,40—1,49 . . . » 17 »	1,90—1,99 . . . » 9 »
1,50—1,59 . . . » 18 »	2,00—2,09 . . . » 5 »

Уровень сахара в крови в значительной мере зависит от скорости поступления сахара в кровь и от степени использования его тканями. Но для оценки функций печени имеет значение не только высота подъема кривой, но и длительность гипергликемии. Для кроликов вообще характерна растянутая гипергликемическая кривая. Так, через 2 часа в огромном большинстве случаев количество сахара в крови выше, чем исходное; через 3 часа примерно у половины животных уровень сахара приближается к исходным данным, а через 4 часа — у большинства (например, по нашим данным, в 19 из 21 исследования). Растянutosть гликемической кривой, медленное возвращение к норме, высокий постгликемический коэффициент свидетельствуют о наличии печеночной недостаточности.

В ряде случаев неплохие результаты дает проба с двойной нагрузкой галактозой.

Начало пробы проводится как обычно, но на высоте подъема сахарной кривой, что у кроликов обычно бывает через час после введения галактозы, вводят еще такое же количество галактозы, как в первый раз. В норме этот прием не вызывает повышения сахара, происходит даже понижение его уровня, хотя и более медленное, чем при однократной нагрузке.

Указанные показатели при пероральном варианте сахарной нагрузки отличаются у нормальных животных известной вариабельностью. Более постоянные результаты (особенно в отношении динамики сахарной кривой по времени) дает внутривенная модификация пробы, хотя технически она несколько сложнее [В. Н. Тугаринова, В. Е. Миклашевский и др.; Кинг (A. King) и др.].

Некоторые авторы вводят в исследование предварительную обработку взятых проб крови дрожжами [Сомоджи (M. Somogy), Кинг и Айткен (A. King a. R. S. Aitken)], что позволяет исключить влияние на получаемые показатели колебаний естественного содержания сахара в крови (дрожжи разлагают имеющуюся во всякой нормальной крови глюкозу, но не действуют на введенную в кровь извне галактозу).

Выбор конкретного варианта проведения сахарной нагрузки и анализа крови должен вытекать из задач, сроков и технических возможностей каждой данной работы.

Для оценки антитоксической функции печени у кроликов и крыс может быть применена *проба с образованием гиппуровой кислоты*. При введении бензойнокислого натрия получающаяся в организме бензойная кислота соединяется с гликоколом в печени, в результате чего синтезируется гиппуровая кислота, выделяемая затем с мочой. При поражении печени интенсивность этого синтеза уменьшается, а следовательно, уменьшается и количество гиппуровой кислоты, выведенной с мочой.

Пробу с образованием гиппуровой кислоты у кроликов проводят по общепринятой методике, модифицированной Е. С. Родкиной. Накануне исследования кролики получали только 60—70 г бурака. В день исследования до окончания сбора мочи животным не давали воды и пищи. С помощью зонда в желудок кроликам вводилось 1,5 бензойнокислого натрия, растворенного в 15 мл воды, а затем еще 75 мл воды. Животных помещали в обменные клетки. Сбор мочи производили за 4 часа и за сутки. К концу этих сроков с помощью тонкого стерильного катетера опорожняли мочевой пузырь животных.

В норме, по данным автора модификации, у кроликов в течение 4 часов выделяется 0,6—0,8 г гиппуровой кислоты, в течение суток — 0,93—1,25 г. Техника постановки гиппуровой пробы на белых крысах описана И. Г. Степановой.

Для изучения нарушений протеиногенной функции печени применяют пробы, которые дают возможность отметить изменения в свойствах белков сыворотки. Из многочисленных проб, применяемых в данном случае, для опытов на животных лучше других подходит *тимоловая проба*. Она обладает большой чувствительностью и требует малого количества крови. Более грубой, но зато очень простой и быстро выполнимой является *проба с люголевским раствором*. Обе пробы описаны в специальных руководствах по лабораторной технике (В. Е. Предтеченский, М. Л. Петрунькин и А. М. Петрунькина и др.).

Можно применять пробы, определяющие нормальные продукты обмена, в котором большое значение отводится печени. Одной из наиболее специфических проб печени считается изучение *билирубина*, который является продуктом распада гемоглобина и составной частью желчи. К сожалению, при проведении этой пробы тре-

буется сравнительно большое количество крови, что затрудняет работу с мелкими животными.

Можно также исследовать содержание в крови щелочной фосфатазы, холестерина, проводить протромбиновую пробу, в моче определять наличие желчных кислот, желчных пигментов, уробилина и уробилиногена. Все эти методы описаны в руководствах по лабораторной практике (В. Е. Предтеченский, М. Л. Петрунькин и А. М. Петрунькина, А. Я. Альтгаузен и др.).

Функциональные исследования почек

Для того чтобы выявить изменения в функциях почек, прибегают к анализу мочи. Определяют количество мочи, выделяемой за сутки, ее удельный вес, наличие белков, сахара, делают микроскопическое исследование осадка мочи. Но следует отметить, что у кроликов зачастую отмечаются весьма резкие колебания в показателях мочи. У крыс, особенно старых, часто обнаруживается белок в моче в норме. В некоторых случаях можно применять функциональные пробы, например пробу с водной нагрузкой.

Более целесообразно производить оценку функции почек по химическому составу крови, определяя количество остаточного азота и мочевины по общепринятым методикам.

НЕКОТОРЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИЙ ПИЩЕВАРЕНИЯ

В нашей лаборатории большое внимание уделяется изучению изменений функций желудка. Желудок является практически первым органом, который подвергается непосредственному воздействию химических веществ. С другой стороны, ввиду наличия сложных нервных и гуморальных связей, обеспечивающих регуляцию и координацию деятельности отдельных систем организма, на функции желудка влияют также факторы, не имеющие непосредственного соприкосновения с аппаратом пищеварения. Особенно резко изменяется функциональное состояние желудка в случае попадания в организм токсических веществ. В силу сказанного желудочно-кишечные расстройства выступают на первый план в клини-

ческой картине отравлений многими токсическими веществами.

Изучение изменений пищеварительных функций под влиянием токсических веществ может производиться на собаках и кроликах.

Методики, применяемые для оценки функции пищеварения у собак

Слюноотделительная функция как показатель состояния организма

В некоторых условиях слюноотделительные железы весьма чувствительно реагируют на общие нейро-гуморальные сдвиги, происходящие в организме. Слюнные железы как орган, в основном регулируемый нервной системой, со времени классических работ И. П. Павлова используются в качестве показателя изменений, протекающих в центральной нервной системе. С. И. Филлипович выявила изменения в слюноотделении, наступающие после приема пищевого раздражителя, при введении животным различных химических веществ. Этот метод оказался пригодным и для токсикологических целей.

Для исследований были использованы собаки с выведенным протоком слюнных желез. Ход этой несложной операции описан в ряде руководств (например, Е. Н. Сперанской), поэтому в данной книге мы его не приводим. По методике, разработанной С. И. Филлипович, учитывается количество слюны и качественный состав ее (плотный остаток, сухой остаток с подразделением на органические и неорганические вещества) после применения пищевого раздражителя (30 г сухарного порошка). Для того чтобы проследить динамику действия вещества, пищевой раздражитель дают до введения яда, а затем через каждые 15 минут после введения вещества собирают отдельные порции слюны. Мы получили удовлетворяющие результаты, применяя в качестве раздражителя 10% раствор хлористого натрия. Этим раствором в количестве 5 мл орошали полость рта собаки и собирали слюну в течение 5 минут, а затем промывали рот водой. Через 15 минут перорально вводили исследуемое вещество и наблюдали наличие или отсутствие спонтанной секреции. Спустя некоторый промежуток времени

(от 15 до 60 минут в зависимости от быстроты действия исследуемого вещества) вновь орошали полость рта собаки раствором хлористого натрия и собирали слюну, повторяя эту процедуру еще через 15 минут. Исследования показали, что данный метод является достаточно чувствительным показателем. Так, введение синильной кислоты в дозе 0,005 мг/кг вызвало укорочение латентного периода слюноотделения (появление первой капли) и увеличение количества слюны. Эти явления наблюдались не только при первом орошении, но и при повторном.

Малый павловский желудочек

В настоящее время операция создания малого желудочка по Павлову находит применение почти во всех лабораториях, занимающихся изучением пищеварения. Эта методика используется и рядом токсикологических лабораторий. Мы не описываем здесь операцию наложения малого павловского желудочка у собак, так как по этому поводу имеются специальные руководства, к которым и надлежит обращаться (Е. Н. Сперанская). Для начинающих экспериментаторов операция малого желудочка по классическому способу И. П. Павлова является несколько затруднительной, так как хороший результат получается только при наличии достаточной оперативной техники. Недаром предложено значительное количество модификаций классической операции. Из всех предложенных модификаций, на наш взгляд, наиболее удачной является модификация А. М. Уголева. При этой модификации производится изоляция отдельного участка передней стенки желудка. Малый желудочек захватывает малую и большую кривизну, а также промежуточную область. Перегородка, отделяющая большой желудок от малого, состоит из двух слизистых и одной серозно-мышечной оболочки, что обеспечивает ей прочность (рис. 11). В малый желудочек вставляется небольшая (кишечная) фистула. Операция по технике выполнения легче, чем классическая операция, количество удачных исходов больше, чем при других модификациях.

Приводим в качестве примера собственные данные о действии синильной кислоты на функции желудка собак с малым павловским желудочком. На собаках бы-

ло исследовано действие водного раствора цианистого калия в дозах от 0,0002 до 0,2 мг/кг. Действие этих доз было испытано при различных пищевых раздражителях, вызывающих различную секрецию (мясо, мясокостная мука, мясные опилки, молоко).

Доза синильной кислоты 0,2 мг/кг вызывала угнетение секреции. За 3 часа было собрано 7,3 мл желудочного сока, а в контроле у этой же собаки за 3 часа имелось 15,8 мл желудочного сока. Отмечено некоторое уменьшение общей кислотности и количества свободной соляной кислоты. Начало секреции было задержано: первая кап-

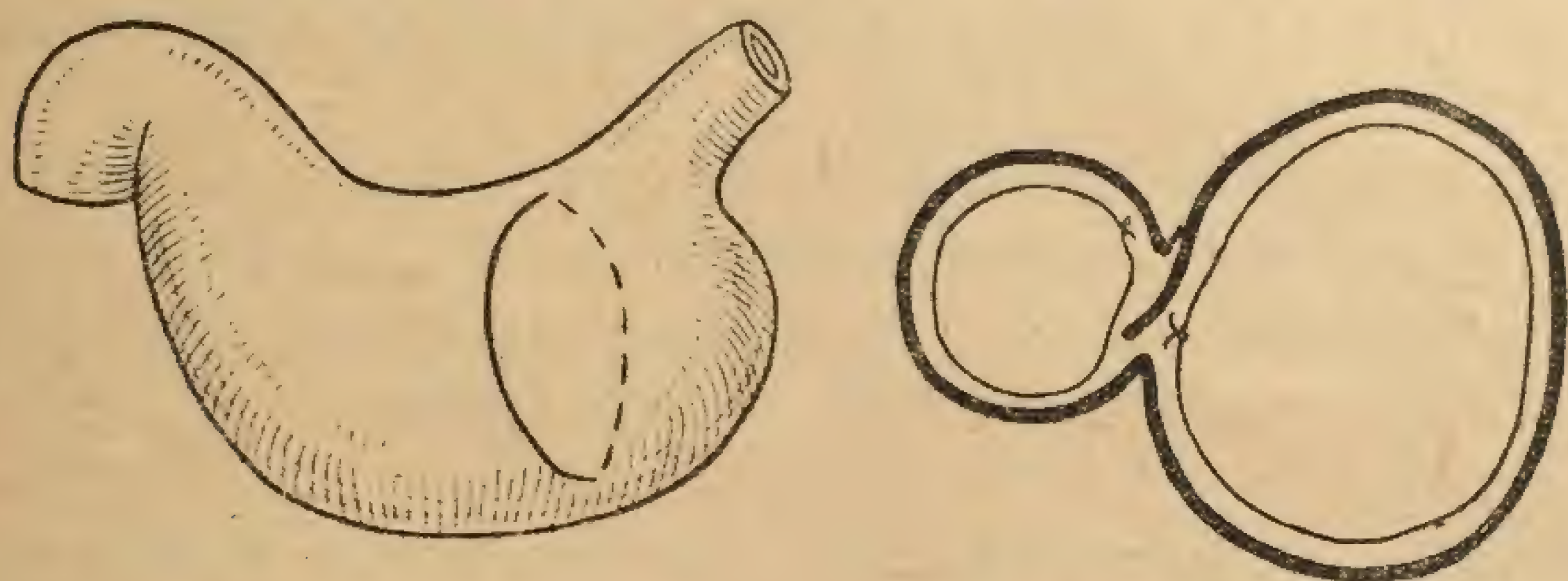


Рис. 11. Схема операции образования малого желудочка по Уголеву.

ля желудочного сока поступала на 25—27-й минуте, а в норме — на 3—10-й минуте. Переваривающая сила желудочного сока также была несколько снижена по сравнению с нормой. Изменения желудочной секреции при введении синильной кислоты в дозе 0,02—0,05 мг/кг веса колебались в пределах, близких к нормальным: в некоторых опытах наблюдалось небольшое торможение желудочной секреции, сопровождаемое уменьшением общей кислотности и количества свободной соляной кислоты, в других — небольшим возбуждением желудочной секреции, а иногда эта доза не вызывала видимых изменений. Действие синильной кислоты в дозах 0,005 мг/кг, а для некоторых собак — 0,0025 мг/кг носило другой характер. Количество секрета увеличивалось на 25—30%. Общая кислотность и количество свободной соляной кислоты увеличивались. Первая капля секрета появлялась в те же промежутки, что и в контроле. Отмечалось общее повышение переваривающей силы желудочного сока.

Изучение экскреторной функции желудка

Для изучения экскреторной функции желудка применяется метод хромоскопии. Собакам вводят внутримышечно 3 мл 1% раствора краски нейтрольрот, а затем сразу же обычный пищевой раздражитель (мясо и т. п.). Изучаемое токсическое вещество вводят перорально или перед введением краски, или вместе с пищевым раздражителем. Первый способ обычно дает лучшие результаты. Показателями экскреторной деятельности могут быть приняты: 1) время появления первой окрашенной капли; 2) интенсивность выделения (по степени окраски секрета); 3) продолжительность выведения окрашенного секрета.

Этот метод является чувствительным показателем действия многих токсических веществ, вводимых в малых дозах. Упомянутые методики наиболее доступны в условиях токсикологической лаборатории.

Методики, применяемые для изучения функций желудка кроликов

Для того чтобы плодотворно использовать кроликов при изучении изменений функции желудка под воздействием токсических веществ, необходимо учитывать анатомические и физиологические особенности пищеварительного тракта и процессов пищеварения этих животных.

Желудок у кроликов при нормальном пищевом рационе всегда наполнен пищевыми массами. Лишение пищи не освобождает полностью желудок от пищевых масс, но уменьшает их количество. По данным некоторых авторов (С. Р. Перепелкин и др.), в случае лишения кроликов пищи содержимое из кишечника забрасывается в желудок, что отчетливо видно при рентгенографии.

Отделение желудочного сока у кроликов происходит непрерывно в течение суток как при кормлении, так и при двухсуточном голодании. Это установлено П. В. Терентьевым на кроликах с малым павловским желудочком и нами на кроликах с фистулой. По нашим данным, количество выделяемого желудочного сока у фистульных кроликов обычно колеблется от 2 до 5 мл в час, при вве-

дении же раздражителя желудочной секреции (например, кофеина) оно увеличивается до 22—25 мл в час. В желудочном соке обычно находится свободная соляная кислота, только у части голодающих кроликов она отсутствует.

Общие приемы оценки секреторной и моторной функций желудка у кроликов

Определение количества свободной соляной кислоты и общей кислотности в желудочном соке кроликов производится общепринятыми методами (см., например, В. Е. Предтеченский). У кроликов могут быть различные варианты общей кислотности и свободной соляной кислоты. Поэтому у каждого животного перед началом введения токсического вещества предварительно устанавливается нормальный фон кислотности желудочного сока.

Изучение изменений кислотности желудочного сока кроликов оказалось чувствительным методом для определения действия малых доз токсических веществ. Функция солянокислой секреции исключительно лабильна. Она необычайно легко отвечает на самые различные воздействия физиологического и патологического характера (Ю. М. Лозовский). Это выявилось и в наших опытах с введением различных токсических веществ. Так, при определении пороговой дозы синильной кислоты было установлено, что синильная кислота в дозе 0,005 мг/кг изменяет кислотность желудочного сока кроликов как при однократном введении, так и в хроническом опыте. При однократном введении отмечалось повышение общей кислотности и количества свободной соляной кислоты; при длительном воздействии, наоборот, наблюдалось снижение кислотности желудочного сока. Только доза синильной кислоты 0,001 мг/кг не дала явных изменений кислотности желудочного сока на протяжении 6 месяцев опыта.

При выявлении пороговых доз тринитротолуола такая малая доза, как 1 мг/кг, не отражалась на общем состоянии кроликов, не изменяла состава крови и функции печени, но кислотность желудочного сока оказалась сниженной, что особенно ярко было видно в хроническом опыте.

При выявлении пороговых доз в качестве раздражителей желудочной секреции применяли, как сказано ниже, кофеин-бензоат натрия и алкоголь. Введение последнего отражалось на общем состоянии животных. К концу опыта они становились пассивными, малоподвижными, при передвижении обнаруживались расстройства координации. Известно, что употребление спирта в условиях производства может провоцировать выявление симптоматики профотравлений некоторыми токсическими веществами. Так, например, прием спирта ухудшал самочувствие лиц, соприкасавшихся с тринитротолуолом (Л. К. Хоцянов). В наших опытах, как указано выше, введение спирта вновь вызывало появление продуктов превращения тринитротолуола в моче кроликов, подвергавшихся хронической интоксикации этим веществом.

Поэтому применение алкогольного «завтрака», изменяя реактивность организма, может обнаружить влияние более малых доз некоторых токсических веществ, чем кофеиновый «завтрак». Так, например, это было хорошо заметно в хроническом опыте с введением малых доз анилина (В. М. Озерова). В хроническом опыте с изучением действия тринитротолуола у кроликов, которым вводилось вещество в дозе 5 мг/кг, более заметные изменения в функциях желудка были найдены при применении в качестве «завтрака» алкогольного раствора.

В некоторых случаях алкогольный «завтрак» дает качественно иную картину, чем кофеиновый. Так, на фоне введения синильной кислоты в дозе 0,2 мг/кг данные кофеиновой пробы свидетельствовали об угнетении функций желудка и, в частности, о снижении кислотности желудочного сока. Аналогичные результаты были получены и в опытах на собаках с малым павловским желудочком. Когда же в качестве раздражителя желудочной секреции был применен алкогольный раствор, у кроликов при тех же условиях интоксикации было отмечено повышение кислотности желудочного сока.

Учитывая все сказанное, желательно применять при фракционном зондировании и кофеиновый, и алкогольный «завтраки». При сопоставлении полученных результатов можно получить некоторые дополнительные сведения для характеристики действия малых доз токсических веществ.

Определение переваривающей силы желудочного сока. Изменения переваривающей силы желудочного сока на фоне хронической интоксикации оказались менее чувствительным показателем, чем сдвиги в кислотности желудочного сока.

Однако при действии некоторых токсических веществ и это определение может дать убедительный материал.

В экспериментах на животных переваривающую силу желудочного сока наиболее целесообразно определять по методу Гросса, который может быть использован при работе как с кроликами, так и с собаками. Общеизвестный метод Метта мало пригоден для работы с кроликами, так как переваривающая сила желудочного сока у этих животных невелика.

Ориентировочный «экспресс-метод» предложен Н. П. Пятницким. Метод основан на оценке переваривающей силы желудочного сока по его способности свертывать молоко. Переваривающая сила желудочного сока выражается в условных единицах. Недостатком метода является требование иметь всегда свежее молоко.

Изучение эвакуаторной способности желудка. Для исследования скорости эвакуации из желудка можно применить метод контрастной рентгенографии. Введение кроликам сернокислого бария в количестве 50 г в 100 мл воды и затем снимки через различные промежутки времени (сразу же после введения, через 15, 30, 45 минут и т. д.) дают характеристику моторной деятельности желудка и кишечника. Этот метод выявил у кроликов, получавших в течение 6 месяцев тринитротолуол в дозах 5 и 1 мг/кг, задержку перехода бариевой взвеси из желудка в кишечник. Особенно резко это было заметно у кроликов, получавших тринитротолуол в дозе 5 мг/кг. У контрольных кроликов поступление бариевой взвеси в тонкий кишечник происходило сразу же после его введения, иногда даже в значительном количестве¹.

Другие способы оценки моторной активности желудка осуществимы лишь на фистульных кроликах (см. ниже).

¹ Снимки производились Н. П. Алексеевой на аппарате РУМ 120, фокусное расстояние 60 см, мощность 56 квт, выдержка 0,4 секунды.

Метод фракционного зондирования

Метод зондирования широко распространен в клинике. Этим методом после пробного завтрака определяют секреторную функцию желудка во вторую, нейро-гуморальную фазу секреции. При зондировании можно применять толстый зонд, который вводят однократно, или тонкий зонд, с помощью которого производят фракционное исследование желудочного содержимого после пробного завтрака.

Мы остановились на методе фракционного зондирования, так как он позволяет производить наблюдение в динамике. Перед исследованием животных лишают пищи на $1\frac{1}{2}$ суток. Несмотря на то что у кроликов секреция совершается непрерывно, она настолько мала, а содержимое желудка обладает такой густой консистенцией, что откачать что-либо через зонд не удастся. Поэтому приходится вводить раздражитель желудочной секреции, в результате чего появляется повышенная секреция и возможность откачать желудочный секрет при помощи зонда. В качестве раздражителя желудочной секреции предложено много самых различных «завтраков». Для кроликов наиболее подходящими оказались кофеиновый (100 мг кофеин-бензоат натрия) и алкогольный (5% раствор этанола) завтраки. Другие испытанные нами раздражители (белый хлеб с водой, чесночный и капустный сок) давали менее четкие и воспроизводимые результаты. Объем пробного «завтрака» 200 мл. Это количество вмещает желудок только крупного кролика весом не менее 3,5 кг. Поэтому для применения метода фракционного зондирования надо подбирать животных соответствующего веса. Несмотря на большое количество, раздражитель желудочной секреции довольно быстро покидает желудок. Так, у кроликов с фистулой уже через 30 минут не было обнаружено водного раствора в желудке.

Техника фракционного зондирования заключается в следующем. Животному вводят зонд (подробнее см. главу 2) из упругой (плотной) резины (при использовании зонда из мягкой резины его стенки слипаются во время попытки отобрать пробу желудочного содержимого). К свободному концу зонда присоединяют 20-граммовый шприц (без поршня), через который затем вводят

раствор применяемого раздражителя желудочной секреции. Обычно раствор входит свободно и применение поршня для введения жидкости не требуется.

Введенную жидкость перемешивают в желудке переменными движениями вставленного в шприц поршня, после чего втягивают примерно 10 мл желудочного содержимого в шприц и вынимают зонд. С результатами первой пробы сравнивают показатели всех остальных проб. Через определенные интервалы времени (обычно 30, 45, 60, 75 минут) зондирование повторяют, отбирая шприцем каждый раз такое же количество желудочного содержимого, как в первый раз. При последнем введении зонда стремятся изъять весь объем жидкости, находящейся в желудке, чтобы иметь представление об ее количестве к концу опыта.

Все описанные манипуляции кролик обычно переносит хорошо.

К числу возможных осложнений при введении раздражителя желудочной секреции относится аспирация желудочного содержимого. Это чаще получается у кроликов небольших размеров, когда введенный раздражитель не уместается в желудке. Если приходится работать с некрупными кроликами, следует уменьшать объем вводимого раздражителя желудочной секреции до 150 мл. Отбор проб обычно происходит свободно, но в некоторых случаях взятие проб может затрудняться густотой желудочного содержимого. Обычно это наблюдается к концу опыта, когда секреция уменьшается. Затруднения при взятии проб в начале и середине опыта могут служить показателем действия введенного токсического вещества. Они могут зависеть от усиленной эвакуации содержимого желудка или от уменьшения секреции.

Полученное в пробах желудочное содержимое фильтруют через бумажный фильтр. Желудочный сок кролика после фильтрации представляет собой прозрачную жидкость, бесцветную или слегка желтоватую.

Фистульный метод

Операция наложения желудочной фистулы. Исследования секреции и моторики желудка можно производить у кроликов, которым наложена же-

лудочная фистула. Предоперационное голодание не очищает полностью желудок у кроликов. Все же лишение кроликов на 2 суток твердой пищи уменьшает количество содержимого желудка и тем облегчает операцию. При операции целесообразно применять спиртовой наркоз. Для этого вводят 2—3 мл 30% раствора спирта в ушную вену кролика. Хорошие результаты дает пентоталовый наркоз. Эфирный наркоз также можно применять, но границы между наркотическим и токсическим действием эфира у кроликов очень близки, вследствие чего у наркотизированного животного может внезапно наступить остановка дыхания.

Ход операции наложения фистулы у кролика не отличается от обычной операции наложения фистулы собакам и не представляет особых трудностей даже для начинающих экспериментаторов.

Укажем на некоторые особенности операции на кроликах.

Разрез по белой линии живота длиной примерно 10 см начинают непосредственно от мечевидного отростка грудины. На передней стенке желудка кролика видны хорошо развитые сосуды; между ветвями сосудов, несколько ближе к большой кривизне и пилорусу, накладывают кисетный шов для фистулы, не захватывая слизистого слоя желудка. Так как желудок кролика содержит пищевую кашицу, то, чтобы не допустить вытекания ее, переднюю стенку желудка приподнимают двумя пинцетами и разрезают на весу в середине заранее приготовленного кисетного шва. Фистулу вводят в желудок через разрез также на весу. Фистулы вытачивают из органического стекла; оно легкое по весу и не изменяется от желудочного сока. Такие фистулы находятся в желудке у наших кроликов годами и не теряют своего внешнего вида. Фистула для кроликов имеет обычную форму, но размеры ее меньше, чем фистулы для собак (длина 3 см, ширина внутреннего просвета 0,9 см, диаметр колец, которые вытачиваются вместе с фистулой, 2 см). Для предохранения от инфекции в конце операции в брюшную полость вводят пенициллин в порошке. Накладывают узловые швы на брюшину, мышцы и кожу. После наложения кожного шва фистулу на пространстве между кожей и верхним кольцом обертывают марлевой турундой, улучшая тем самым прилегание указанных

слоев друг к другу. Турунду снимают на следующий день. Кожные швы снимают через 7 суток. После операции животному на следующие сутки дают только воду, а затем мягкую пищу в небольшом количестве. Через 3—4 дня кролика переводят на обычную пищу.

Операцию наложения фистулы кролики переносят легко и долго живут с наложенной фистулой. У нас имеются кролики, которые живут с фистулой до 3 лет и больше.

Фистульные кролики используются для изучения желудочной секреции, кислотности желудочного сока, переваривающей силы желудочного сока, а также главным образом для изучения моторной деятельности желудка.

Изучение желудочной секреции у кроликов с фистулой проводится обычными методами. Для сбора желудочного сока кроликов привязывают вниз животом к столику, имеющему отверстие в середине. Целесообразно производить сбор после предварительного введения в желудок при помощи зонда одного из раздражителей секреции, но в меньшем количестве, чем у интактных кроликов (не более 100—150 мл). Затем через 30 минут открывают пробку фистулы и наблюдают за секрецией, собирая желудочный сок в пробирки через каждые полчаса.

Изучение моторики желудка у фистульных кроликов. На животных с фистулой осуществимо также изучение моторики желудка общепринятыми способами. При одном из них моторику желудка исследуют при помощи баллона, введенного через фистулу в желудок кролика, с последующей пневматической записью. Движения желудка отражаются на ленте кимографа в виде неравномерных волнообразных колебаний.

Другой способ основан на безбаллонной записи сократительной деятельности желудка (А. И. Мордовцев). При этом методе в фистулу вводят стеклянную трубку, герметически закрывающую отверстие фистулы и при помощи резиновой трубки сообщаемую с капсулой Маррея. Для того чтобы сделать систему более чувствительной, мы ввели в нее водный манометр. При безбаллонном методе регистрируется повышение и понижение внутрижелудочного давления, которые происходят при

моторной деятельности желудка. Регистрируется вся перистальтическая волна по пути ее распространения.

В норме у кроликов моторика записывается в виде довольно пологих, ритмически повторяющихся волн, примерно 1—2 волны в минуту. На этих больших волнах отмечаются иногда более мелкие волны, отражающие, очевидно, сокращение небольших участков желудка. Наконец, в ряде случаев на больших волнах могут быть зарегистрированы очень мелкие и частые волны в виде зубцов, отражающие дыхательные колебания (рис. 12).



Рис. 12. Запись моторики желудка кролика (безбалонный метод).

При изучении изменений моторики под влиянием каких-либо токсических веществ вначале производилась запись фона. Затем, чаще непосредственно через фистулу, в желудок вводилось изучаемое вещество. Опыт показал, что введение жидкости до 5 мл само по себе не изменяет моторику желудка.

Изучение моторики желудка является чувствительным методом при исследовании действия различных веществ.

Так, например, введение тринитротолуола в дозах 3 и 1 мг/кг явно тормозило моторику желудка. Глубина волн моторики уменьшалась настолько, что временами линия записи моторики желудка походила на прямую, только слегка волнистую линию. Ослабление моторики у некоторых кроликов наблюдалось почти с первой минуты введения, а у других отмечалось с 4—5-й минуты после введения. Только постепенно глубина волн возвращалась к норме: у кроликов, которым вводили тринитротолуол в дозе 1 мг/кг, — через 9—16 минут, а у кроликов, которым вводили это вещество в дозе 3 мг/кг, — через 30 минут и дольше. В опытах с исследованием токсичности тринитротолуола исследование моторики желудка позволило выявить пороговую дозу действия этого вещества — 1 мг/кг.

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ СОСТОЯНИЯ ВЫСШЕЙ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Изменения высшей нервной деятельности являются обычно наиболее ранними признаками действия токсических веществ на организм животных, поэтому методики, регистрирующие эти изменения, нашли широкое применение в токсикологическом эксперименте. Из большого количества разработанных в настоящее время методик исследования центральной нервной системы приводим те, которые наиболее отвечают условиям санитарно-токсикологического исследования.

Исследование безусловнорефлекторной деятельности

Исследование двигательных ориентировочных, оборонительных и пищевых рефлексов

Наиболее простой, не требующей специальной аппаратуры и предварительной подготовки животных, является методика, при которой визуально учитывается ориентировочный или оборонительный рефлекс животного на раздражители. Раздражители могут быть самыми разнообразными и подбираются экспериментаторами в зависимости от условий опыта: звуковые (звонок, свисток, стук и т. п.), световые (яркий свет), тактильные (прикосновение или нажим в разных областях тела животного, выдувание воздуха из резинового баллона по направлению к морде животного), болевые (укол иглой лап или хвоста, захват корнцангом за хвост, за шкурку животного), электрокожные (разряд индукционной катушки), пищевые (кусочек какой-либо пищи) и т. п. Используя набор таких раздражителей, В. К. Фадеева выявила постепенное развитие действия фенамина на крыс. Аналогичные тесты были использованы для характеристики безусловнорефлекторной деятельности животных при дифтерийной интоксикации и влияния на соответствующие показатели курса инъекций фенамина (В. Е. Миклашевский). Этот метод можно применить и в санитарно-токсикологической практике при изучении действия вещества в остром опыте. С некоторыми модификациями мы использовали описываемую методику на протяжении хронического опыта, регистрируя быстроту угасания ори-

ентировочных рефлексов и степень усиления оборонительных. Применялся стереотипный набор раздражителей, каждый из которых действовал на животное троекратно с интервалами 2—3 минуты. По окончании испытания выяснялось, как быстро животное возвращается к нормальному состоянию. Для оценки реакции можно пользоваться пятибалльной системой:

1 балл — весьма слабая реакция; животное не двигается с места; только слабые движения ушами, легкое вздрагивание говорят о наличии реакции;

2 балла — слабая реакция; общая двигательная реакция отсутствует, но животное поворачивает голову по направлению к раздражителю, отдергивает хвост или лапу при уколе иглой;

3 балла — реакция средняя по силе; появляется общая двигательная реакция; на звук крыса спокойно подходит к месту, откуда слышался шум, обнюхивает, иногда приподнимается на задние лапы; при тактильном или болевом раздражении она отдергивает поражаемое место, поворачивается по направлению к раздражителю, скалит зубы, пищит, обороняется лапами;

4 балла — живая реакция; по характеру реакция такая же, но возникает значительно быстрее; животное быстро передвигается, живо реагирует на звуки и болевые раздражители; явления возбуждения быстро стихают и крыса успокаивается.

5 баллов — резкая реакция; проявление реакции примерно такое же, как при 4 баллах, но выявлено более сильно и продолжается более длительное время (2—3 минуты).

Во время проведения исследования ведется подробная протокольная запись на каждое животное отдельно. Затем производится анализ полученных материалов и составляется таблица, где активность реакции животных характеризуется в баллах или каким-либо другим способом (например, крестами). При анализе следует учитывать возможность изменений, зависящих от различий типологических особенностей животных. К недостаткам данной методики относится отсутствие объективной регистрации. Этот недостаток отсутствует в методике исследования ориентировочных и оборонительных рефлексов у крыс и кроликов, разработанной С. М. Павленко. Автор использовал объективный метод регистрации одного

из вегетативных компонентов ориентировочного или оборонительного рефлекса, а именно дыхательного. Этот компонент не может быть оторван от общих проявлений сложных безусловных рефлексов, обусловливаемых корковыми и подкорковыми механизмами. Регистрация ды-

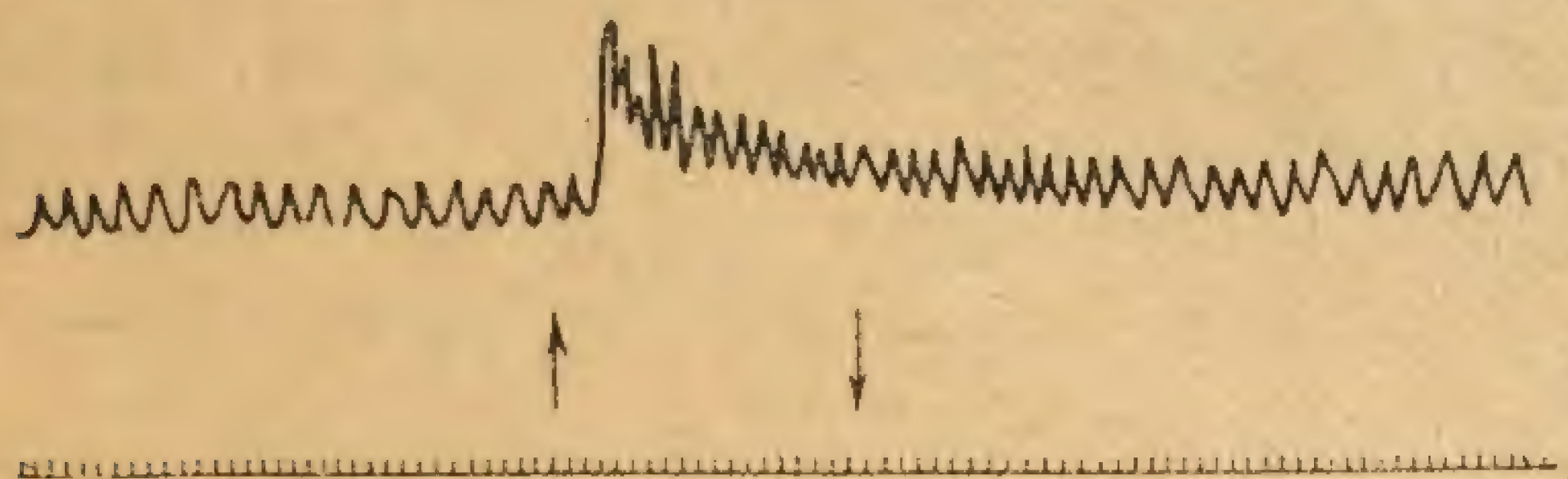


Рис. 13. Изменения дыхания кролика при воздействии гудком.

хания производится обычным способом. Раздражители применяются такие же, как в указанной выше методике. На действие раздражителей животные отвечают не толь-

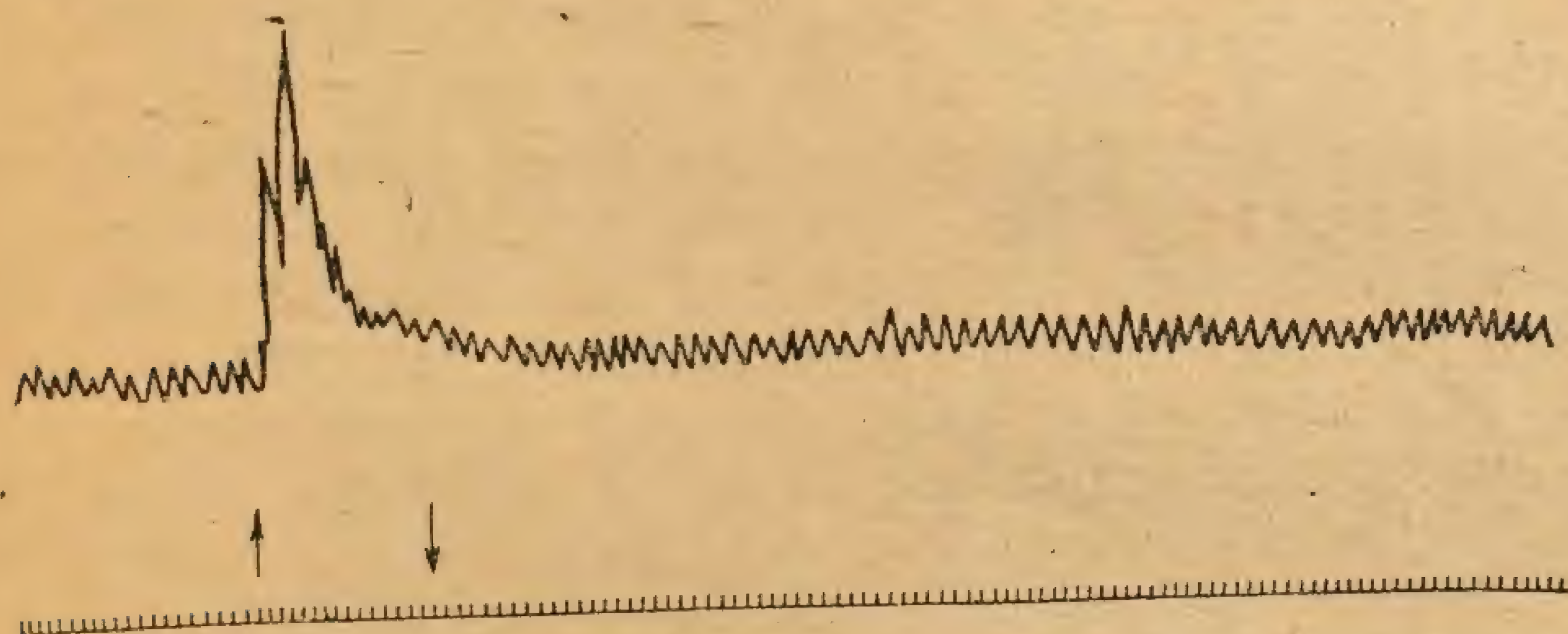


Рис. 14. Изменения дыхания кролика при воздействии свистком.

ко изменением дыхания, но и двигательными реакциями. Однако запись дыхания представляет самостоятельный интерес. У кроликов в норме записывается четкая дыхательная кривая равномерного ритма. В ответ на раздражители у животных возникают закономерные изменения дыхательной кривой в виде учащения дыхания на слабые ориентировочные раздражители, а на более сильные раздражители — глубокий вдох с последующим учащением дыхания (рис. 13 и 14). Ориентировочные рефлексы при многократном повторении в течение короткого времени одного и того же раздражителя могут

угаснуть. Поэтому при динамическом исследовании воздействуют одним и тем же раздражителем не более 6—7 раз.

Изучение изменений некоторых вегетативных рефлексов

Изменение дыхания было использовано как показатель и при исследовании действия токсических веществ на некоторые вегетативные рефлексы кроликов.



Рис. 15. Дыхательная реакция кролика на воздействие паров аммиака в норме.

Опыт проводится так же, как при исследовании ориентировочных и оборонительных рефлексов. Показателями служат две пробы — воздействие паров аммиака и давление на глазные яблоки. Как известно, вдыхание паров аммиака ведет к приостановке дыхания у кроликов. Мы применили дозированное раздражение дыхательных путей, прикладывая на 15 секунд к морде кролика небольшой стеклянный стакан, куда вносилась одна капля аммиака. В ответ на раздражение парами аммиака кролик обычно задерживает дыхание. После снятия стакана отмечается небольшой вдох, вновь кратковременная задержка дыхания и затем постепенное его восстановление.

На кимографе получается характерная кривая с более или менее высоким подъемом в начале и полого спускающаяся без дыхательных волн на протяжении всех 15 секунд (рис. 15).

Другой характер кривой получается у кроликов, отравленных каким-либо веществом, например метанолом (рис. 16).

И. С. Александров показал возможность использования для оценки функционального состояния вегетативной нервной системы кроликов при отравлении

их малыми дозами промышленных ядов так называемого глазо-сердечного рефлекса. В нашей модификации регистрировалось изменение не сердцебиения, а дыхания, поэто-

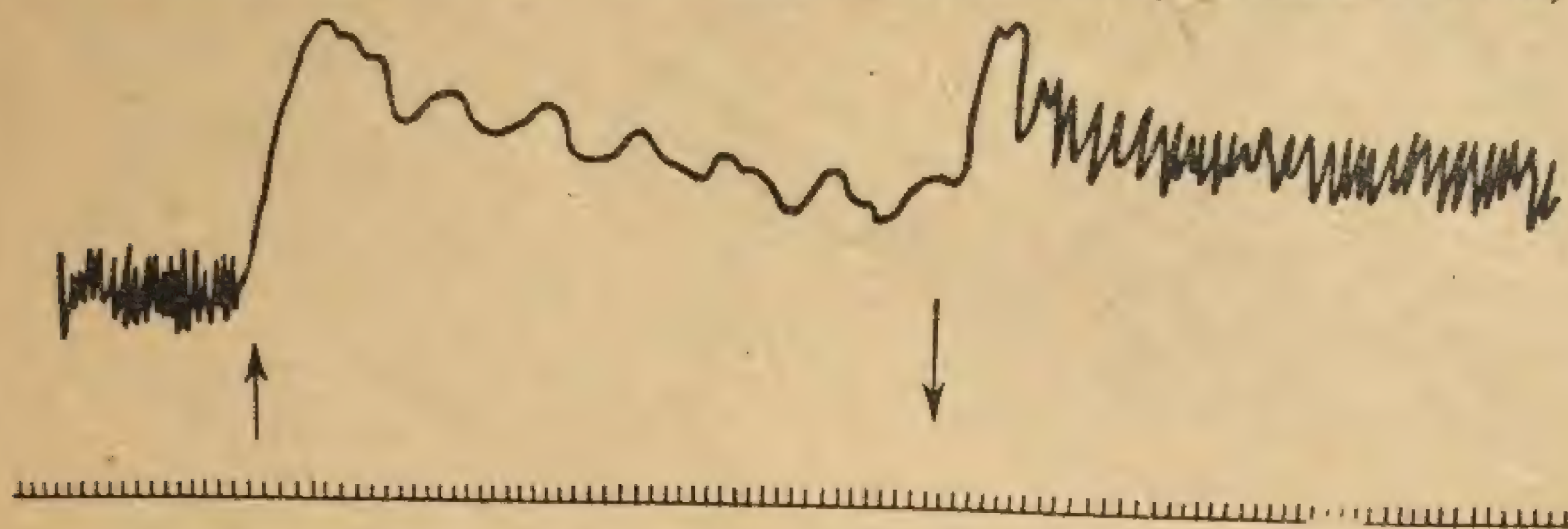


Рис. 16. Изменения дыхания кролика при воздействии парами аммиака на фоне хронического перорального поступления в организм метанола.

му правильнее назвать эту пробу глазо-дыхательной. Надавливание в течение 15 секунд на глазные яблоки кролика вызывало у него в первые 1—2 секунды учаще-

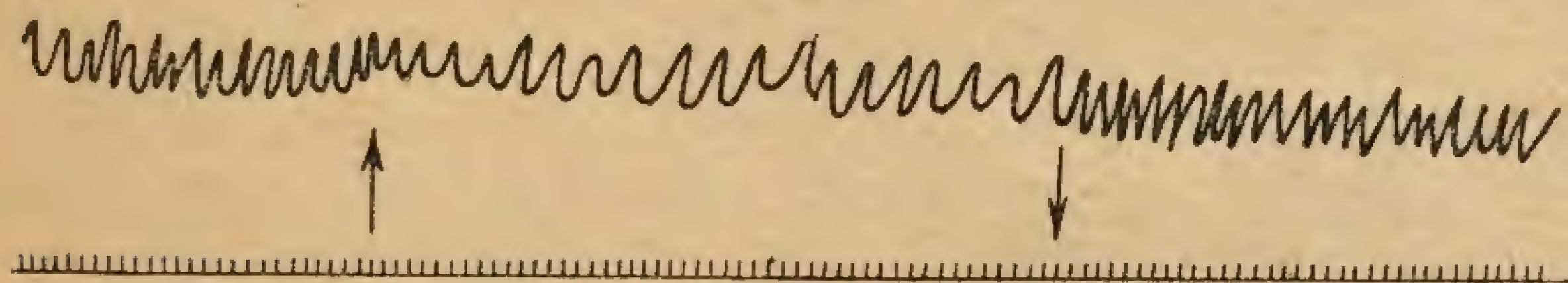


Рис. 17. Изменения дыхания кролика при надавливании на глазные яблоки в норме.

ние ритма дыхания, а затем явное замедление его. После того как давление прекращалось, дыхание постепенно нормализовалось. Преимуществом глазо-дыхательной

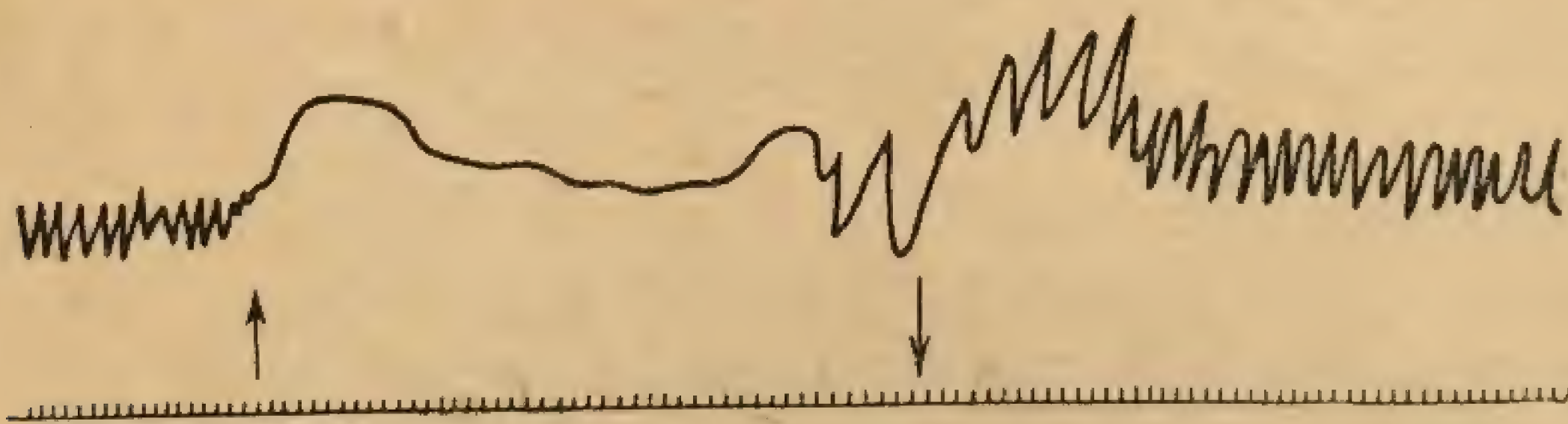


Рис. 18. Изменения дыхания кролика при надавливании на глазные яблоки на фоне длительного воздействия метанола (доза 1 мл/кг).

пробы является простая по технике запись (рис. 17). Под влиянием токсических веществ характер кривой резко изменяется (рис. 18).

Изменения дыхания при надавливании на глазные яблоки и воздействию паров аммиака, выраженные характерными кривыми записи дыхания, достаточно стабильны. Контрольный опыт, заключающийся в прикладывании пустого стакана к морде кролика, не вызывает остановки дыхания, а лишь незначительно замедляет его. В опытах на кроликах методика является достаточно чувствительным показателем изменений вегетативных рефлексов под влиянием токсических веществ.

Определение суммационной способности центральной нервной системы

Чувствительным тестом является определение суммационной способности центральной нервной системы белых мышей по М. А. Розину. Суммационную способность центральной нервной системы характеризует время, через которое животное дает реакцию на прерывистые импульсы электрического тока напряжением 16 в с частотой 120 имп/мин. При проведении исследования мышь удерживается экспериментатором в вертикальном положении. Задние конечности животного помещают на пластинчатые электроды, обернутые марлей и смачиваемые физиологическим раствором. На электроды поступают электрические импульсы. Электрический ток напряжением 12—16 в, не оказывающий влияния на мышь при однократном воздействии, при повторении импульсов вызывает реакцию. По метроному отсчитывают, на каком по счету импульсе животное отнимает лапу от электрода.

Определение времени скрытого периода рефлекса

В токсикологической практике широко применяется как показатель вредного действия на центральную нервную систему определение скрытого времени рефлекторных реакций на электрораздражение.

С. И. Горшковым и К. И. Куликовым для определения скрытого времени рефлекторной реакции предложен прибор — хронорефлексометр. С помощью этого прибора можно исследовать время рефлекса не только у животных, но и у людей, с определением скрытого времени зрительной, слуховой и болевой моторной реакции, а также сухожильных рефлексов. У животных исследуется скры-

тое время оборонительного моторного рефлекса. При работе с животными для подачи раздражителя и регистрации реакции к прибору подключают специальный блок, представляющий собой небольшую камеру с раздвигающимися боковыми стенками и подвижной крышкой, которая соприкасается со спиной крысы. На дне камеры расположены электроды для подачи раздражения. Нанесение последнего вызывает рефлексорную экстензию конечностей, т. е. заставляет крысу подпрыгнуть, приподнять крышку и тем самым разомкнуть контакт в цепи счетного устройства (прекратить счет). Скрытое время реакции характеризуется количеством подсчитанных импульсов, показываемым 9 светящимися индикаторами (неоновыми лампочками). Прибор позволяет определить скрытое время рефлекса с точностью до 1 сигмы. При определениях отмечается естественный разброс получаемых данных. Величина разброса сама по себе является важной функциональной характеристикой, зависящей от состояния центральной нервной системы. Однако для сравнения различных этапов исследования необходимо получение средних данных. Поэтому каждое измерение должно повторяться пять раз; вычисленные средние являются достаточно стабильными и могут служить для сравнения.

Для определения времени рефлекса на кроликах чаще используется известная методика исследования сгибающего рефлекса Е. И. Люблиной. Данная методика, успешно применяемая при проведении острых и подострых опытов, может быть использована и в условиях хронического опыта. Изменение протекания безусловного рефлекса нарастает с увеличением количества экспозиций. В зависимости от типа яда отмечается угнетающее или возбуждающее действие его на центральную нервную систему.

Изучение состояния условнорефлекторной деятельности животных

Изучение изменений условнорефлекторной деятельности животных под воздействием токсических веществ широко применяется в санитарно-токсикологических исследованиях. Этот метод является в большинстве случаев весьма тонким индикатором действия малых доз ядов.

При помощи метода условных рефлексов удастся выявить некоторые особенности действия токсических веществ, в частности при хронической интоксикации — характеристику и протяженность периода нормализации условных рефлексов после окончания воздействия ядов и т. п. Применение этого метода особенно ценно в тех случаях, когда требуется выявить пороговые и подпороговые количества веществ, чтобы дать материал к обоснованию предельно допустимых доз.

В области промышленной токсикологии метод условных рефлексов впервые использовал в 1930 г. И. С. Цитович (опыты на собаках). Много способствовал внедрению этого метода в токсикологию проф. Н. С. Правдин, предложивший ввести его в число методических приемов при работе с мелкими лабораторными животными (белые крысы). В настоящее время в токсикологической практике исследования условнорефлекторной деятельности проводятся на мышах, крысах, морских свинках, кроликах, кошках, голубях и др. Чаще всего для этих целей используют белых крыс. У них быстро вырабатываются и укрепляются рефлексы на сигнальные раздражители. Содержание достаточного количества крыс в виварии не представляет особых трудностей. Содержание таких животных, как кошки, обходится более дорого, однако при наличии соответствующих возможностей представителям этого вида должно быть отдано предпочтение в силу легкости образования у них условных связей и стабильности показателей условнорефлекторной деятельности (Е. И. Спыну). Некоторые авторы (О. В. Малиновский, Л. А. Пронин) рекомендуют использовать в качестве экспериментального объекта кроликов. Условнорефлекторная деятельность этих животных по сравнению с таковой белых крыс отличается худшими характеристиками. Однако в хронических опытах на кроликах наряду с состоянием (динамикой) условнорефлекторных реакций удастся исследовать значительно более широкий круг других функциональных отправления и тем самым более полно оценить состояние организма в целом.

Выбор конкретного вида животных для опытов по условнорефлекторной методике должен производиться с учетом целей работы и видовой чувствительности к изучаемому яду.

Наличие видовых особенностей поведенческой характеристики определило необходимость разработки для каждого вида лабораторных животных специальных модификаций условнорефлекторной методики. Ниже мы переходим к описанию ряда методических схем и конструкций такого рода, получивших наибольшее распространение в экспериментальной практике.

Методики исследования двигательно-оборонительных условных реакций

Опыты по двигательно-оборонительной методике на мышах и крысах обычно проводятся в камере Александра (И. С. Александров и Н. Г. Малицкая).

Камера для выработки оборонительного рефлекса у мышей представляет собой длинный ящик, разделенный продольной перегородкой с отверстием для перехода животных из одной части в другую. В качестве безусловного болевого раздражителя применяется электрический ток напряжением 18—20 в. Пол камеры составлен из алюминиевых пластинок, соединенных через реостат с источником электрического тока. На фоне предъявления условного сигнала животное, находящееся в одном отсеке камеры, получает электрораздражение, предотвращаемое лишь в случае заблаговременного (в период изолированного действия условного раздражителя) перехода в другую половину ящика. Выработка положительных оборонительных условных рефлексов у животных происходит быстро.

И. С. Александрову и М. Г. Цыбиной удавалось добиться у мышей закрепления стабильной условнорефлекторной реакции после 30—40 сочетаний (6—8 сеансов). В наших опытах упрочение оборонительных условных реакций достигалось через 15—25 сочетаний (2—3 сеанса). По данным Е. И. Спыну, выработка условных рефлексов у мышей и крыс происходит за 4—5 сеансов. Однако отрицательная условная реакция (дифференцировка) закрепляется гораздо труднее.

В острых и подострых опытах методика оборонительных условных рефлексов может использоваться с успехом. Однако в условиях хронического эксперимента, т. е. систематического воздействия на животных отрицательных по биологической значимости раздражителей, воз-

можно развитие перенапряжения основных нервных процессов, связанного не с токсическим эффектом изучаемого препарата, а с особенностями используемой методики.

В результате животные впадают в невротическое состояние, характеризующееся «срывом в сторону предельного торможения» (преимущественное поражение раздражительного процесса) или «срывом в сторону возбуждения» (преимущественное страдание процесса активного торможения). В первом случае животные обнаруживают резкое ослабление или потерю способности к адекватным реакциям на действие ранее закрепленных условных сигналов, а при особо тяжелых срывах даже безусловных (оборонительных) раздражителей. На этом фоне иногда выявляются парадоксальные функциональные состояния высших нервных структур — бурные реакции на «индифферентные» (впервые встречаемые животным) раздражители. При другой форме невроза наблюдается потеря всех выработанных тормозных условных связей, неадекватная возбудимость коры головного мозга с быстрой иррадиацией возникающего возбуждения на окружающие области (чрезмерные по силе реакции на условные сигналы наряду с реагированием на «посторонние» раздражители).

Таким образом, у животных при перенапряжении («сшибках») возбуждательного и тормозного процесса нарушения высшей нервной деятельности могут иметь двоякую направленность: в сторону патологической инертности охранительного торможения и в сторону патологической инертности раздражительного процесса. Такие данные были получены А. И. Карамяном при электрооборонительной методике на голубях и морских свинках.

Учитывая, что при ведении шестимесячного хронического санитарно-токсикологического эксперимента общее число предъявленных животному сочетаний неизбежно достигает весьма значительных цифр, от применения оборонительной методики в таких случаях лучше воздержаться.

Изучение условных рефлексов по оборонительной методике в опытах на кроликах обычно проводится на основе регистрации выработки и характера локальных двигательных реакций на условные сигналы. Такова, например, «отряхивательная методика», где безусловным подкреплением служит минимальное электрораздражение

уха животного (через наклеенный электрод), вызывающее отряхивательную реакцию головы и ушей (Г. А. Образцова, Л. А. Пронин).

По рекомендации Г. А. Образцовой, условные положительные и тормозные раздражители чередуются 3—4 раза в течение сеанса с интервалом в 1 минуту. Величина условного рефлекса учитывается по пятибалльной системе, отражающей число отряхивательных движений за период изолированного действия условного раздражителя (10 секунд). Дифференцировка у кроликов относительно устойчива (Л. А. Пронин).

Исследование двигательных-пищевых условных рефлексов

Изучение условных рефлексов с пищевым подкреплением при действии токсических веществ широко применяется в санитарно-токсикологическом исследовании. Известны многочисленные камеры для выработки условных рефлексов по локомоторно-пищевой методике для мелких лабораторных животных. В устройстве этих камер имеются некоторые различия в деталях, но основной принцип один. Животное находится в одном конце камеры. На условный раздражитель оно должно подойти к кормушке. Примером такого устройства может служить один из вариантов камеры Л. И. Котляревского для крыс и камера для кошек, предложенная Е. И. Спыну. В камере для кошек имеются две полочки: а) в центре камеры межсигнальная, где животное сидит в ожидании сигнала; б) у кормушки. Автоматические писчики регистрируют на кимографе изменение положения полочек. Учитывается латентный период и время побежки. В камере Ф. Н. Ведяева для кроликов отдельно регистрируются общие движения животного, подход к кормушке и момент взятия пищевого подкрепления.

В некоторых случаях путь к кормушке усложнен. Например, в камере предложенной В. К. Фадеевой и А. Ю. Изергиной, крыса должна взбираться к кормушке по наклонному полу. Специальное устройство позволяет регистрировать момент, когда животное начинает подниматься вверх и когда оно подойдет к кормушке.

Камеры такого типа могут быть полезны в тех случаях, когда можно предположить действие изучаемого яда на локомоторную функцию организма животных.

К разновидностям двигательной-пищевой методики относится также лабиринтная, используемая обычно в опытах на мышах и крысах. Подкреплением служит пища, помещенная в центре или в конце (у «выхода») лабиринта (рис. 19). При некоторых вариантах методики животное должно пройти до кормушки несложный лабиринт в ответ на предъявление искусственного сигнального раздражителя (звук, свет и т. п.). Учитывается время,

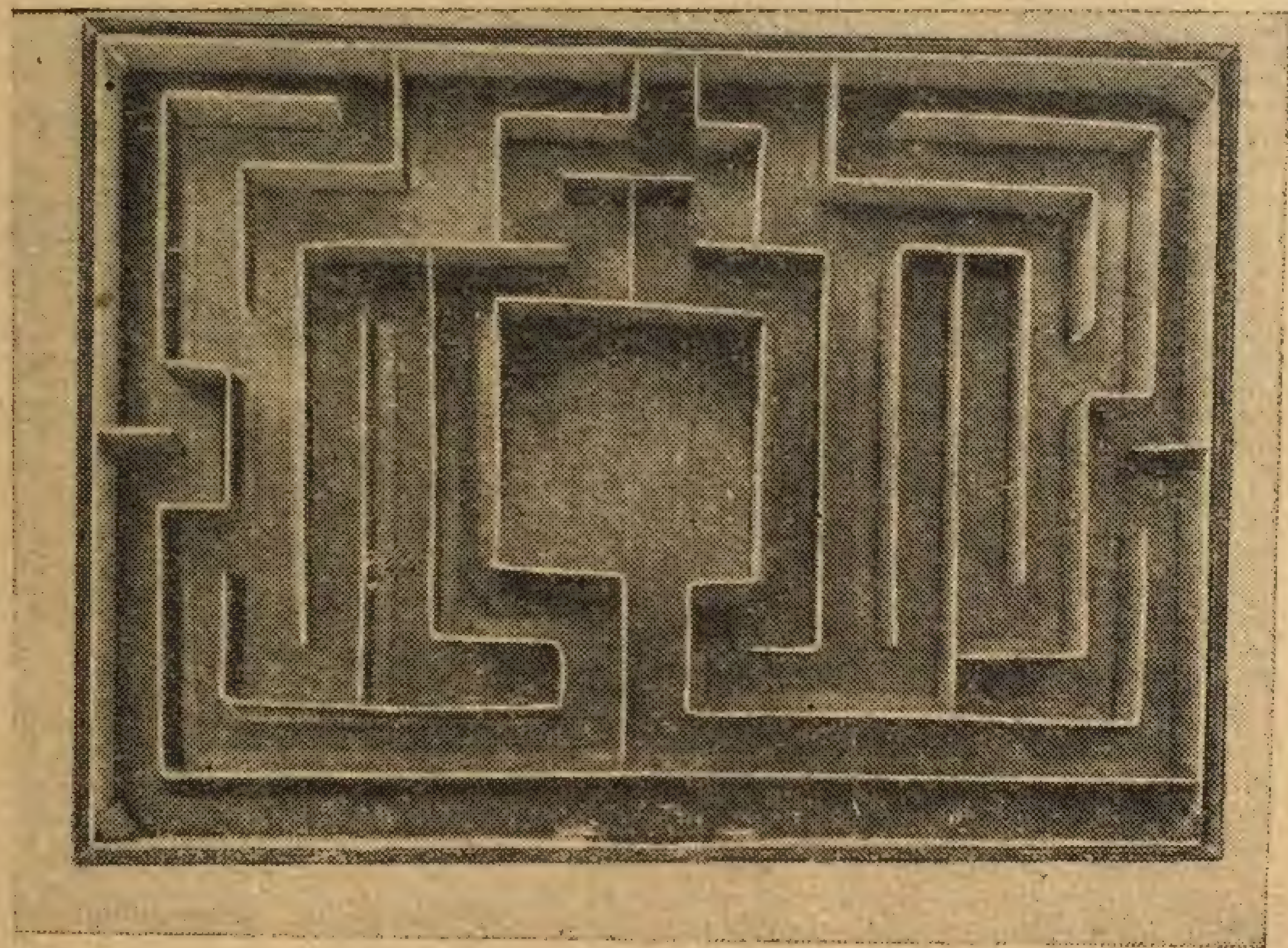


Рис. 19. Лабиринт для выработки условных рефлексов у мышей.

потраченное животным на достижение кормушки, и правильность последовательного передвижения по лабиринту.

В других случаях просто помещают животное в начальный отсек (ко «входу») лабиринта и наблюдают за его перемещением к месту нахождения пищи. Регистрируется время, затраченное на прохождение определенных участков лабиринта, количество верных и неверных выборов пути (тест «проб и ошибок»). Постепенно у животных вырабатывается «лабиринтный навык», т. е. способность быстро и безошибочно проходить путь от входа до пищи. Лабиринтный навык является локомоторным условным рефлексом характера цепной связи пространственных ситуаций и пищи (А. О. Долин и Ю. М. Конорский). Навык вырабатывается довольно быстро — при

помещении подкрепления в центре лабиринта примерно в течение недели.

Некоторые методики основаны на использовании локальной пищедобывательной реакции. В качестве двигательной реакции на пищевой сигнал закрепляется специализированное движение животного: дерганье зубами за кольцо (камера для кроликов О. В. Малиновского), удары клювом по рычагу (камера для голубей А. В. Бару), приподнимание дверцы кормушки (камера для крыс Л. И. Котляревского).

Камера для кроликов О. В. Малиновского представляет собой ящик размером $70 \times 50 \times 60$ см со стеклянной отодвигающейся стенкой. На одной стенке имеется выдвижное металлическое кольцо, покрытое эбонитовой изоляцией. Образование условных рефлексов у кроликов в данной камере происходит в два этапа. Сначала вырабатывается условнорефлекторное (обстановочное) движение дерганья кольца. Кольцо смачивается морковным соком. Как только кролик потянет кольцо зубами, ему дают пищевое подкрепление. После упрочения указанной реакции начинает предъявляться звуковой раздражитель. В дальнейшем подкрепляются только те дерганья за кольцо, которые совпадают с действием этого раздражителя, в результате чего на него вырабатывается условный рефлекс.

Данная методика является наиболее адекватной для кроликов, позволяет быстро вырабатывать специализированный двигательный условный рефлекс, который объективно и с количественной оценкой регистрируется.

Тот же методический принцип лежит в основе опытов в камере А. В. Бару для голубей. Вначале птица приучается к условнорефлекторному движению, а затем начинается выработка условного рефлекса. Характерной чертой голубей является более быстрое образование условных рефлексов со зрительного анализатора, чем со слухового. У голубей вырабатывают как положительные условные рефлексы, так и дифференцировку (Б. И. Баяндунов).

Камера для крыс Л. И. Котляревского получила широкое распространение в санитарно-токсикологических исследованиях. Условнорефлекторное движение заключается в толкании (открывании) животным в ответ на предъявление сигнала дверцы (заслонки), за которой находит-

ся кормушка, куда с определенным отставлением подается подкрепление. Объективность получаемых показателей в значительной мере зависит от системы регистрации особенностей реакции животных и управления опытом. Предусматриваемые в оригинальном варианте методики — визуальное определение латентных периодов условных рефлексов по секундомеру и аналогичная оценка силы реакции по первоначальному перемещению уровня водяного манометра (на который пневматически передаются толчки дверцы) — не могут быть признаны безупречными. В подобных условиях снимаемые показания неизбежно носят на себе отпечаток субъективных качеств экспериментатора (быстроты его реакции на реакцию животного, точности координации действий и т. п.), т. е. в известной мере отражают состояние его собственной высшей нервной деятельности.

В связи с этим за последние годы предложены усовершенствования методики, устраняющие недостатки ее оригинального варианта и обеспечивающие более объективную характеристику условных рефлексов животных (А. Ф. Аксюк), а также и целесообразную степень автоматизации управления опытом (Н. И. Лосев и В. Е. Миклашевский). В схеме А. Ф. Аксюка для регистрации латентного периода применяется электросекундомер, стрелка которого начинает автоматически двигаться при подаче сигнала и автоматически останавливается при толчке дверцы крысой. Величину рефлекса можно учитывать (в условных единицах) с помощью электромагнитного устройства, присоединенного к дверце, с передачей полученных результатов на вольтметр (А. Ф. Аксюк) (рис. 20 и 21).

Н. И. Лосев и В. Е. Миклашевский предложили простое электронноинтегрирующее устройство — интегратор, в основе которого лежит линейное преобразование двигательной функции в переменное напряжение с последующим интегрированием его во времени. Перемещения животного линейно связываются с подходящим датчиком омического сопротивления, включенным в цепь стабилизированного источника питания постоянного тока. Снимаемое с датчика напряжение подается через сопротивление на емкость. Эта цепь и является интегрирующим элементом. Напряжение, возникающее на конденсаторе к концу периода наблюдения, является сум-

марным показателем интенсивности и длительности исследуемого движения. С интегрирующего конденсатора напряжение подается на измерительную схему, представ-

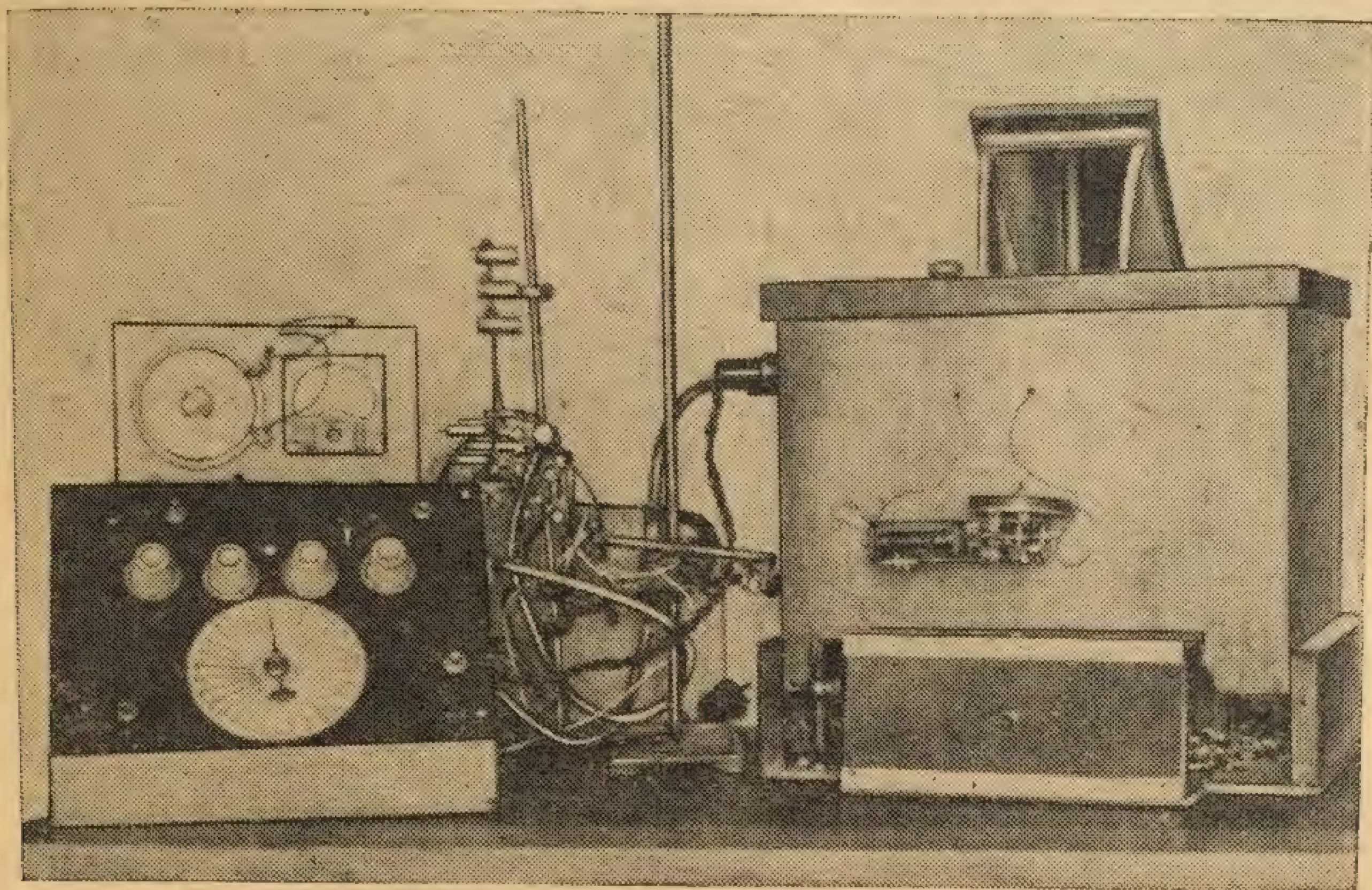


Рис. 20. Установка А. Ф. Аксюка для объективной регистрации показателей условных реакций животных при исследованиях в камере Л. И. Котляревского (общий вид).

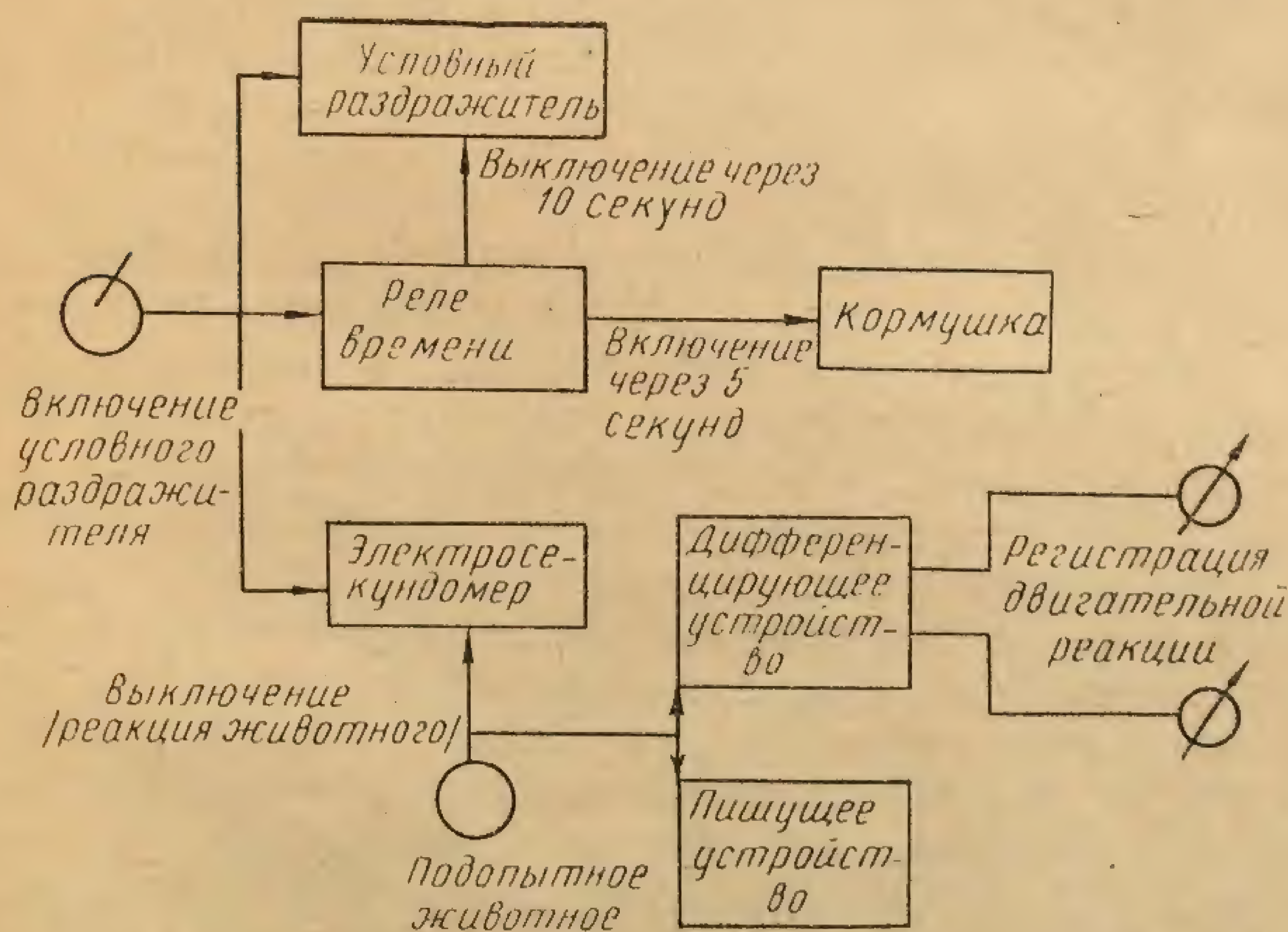


Рис. 21. Общая схема установки А. Ф. Аксюка.

ляющую собой катодный повторитель, на выходе которого включен магнитоэлектрический прибор по мостовой схеме (рис. 22а). Показания прибора характеризуют соответствующую двигательную реакцию в объективных условных единицах. Если в установке использовать несколько идентичных интегрирующих систем, возможно

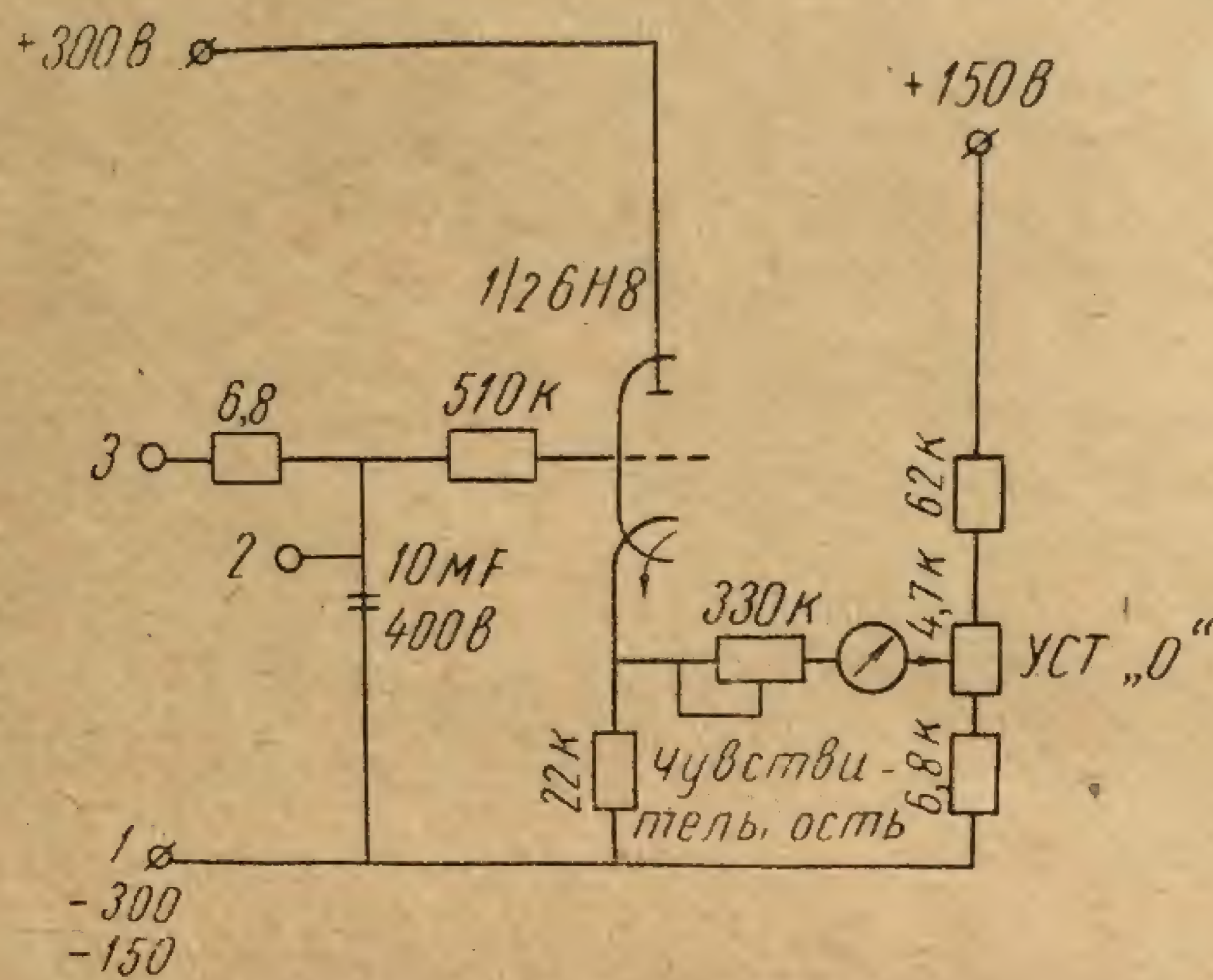


Рис. 22а. Схема интегрирующей системы, используемой в установке Н. И. Лосева и В. Е. Миклашевского для объективной регистрации показателей двигательной активности животных.

раздельно исследовать искусственные и натуральные условные реакции, а также интерсигнальную двигательную активность. С помощью простых электронных реле времени и блокировочных устройств управление опытом полностью автоматизировано (рис. 22б и рис. 23).

Исследование высшей нервной деятельности в санитарно-токсикологическом эксперименте обладает своей спецификой — в длительном опыте изучается действие весьма малых доз, близких к пороговым, поэтому к проведению условных рефлексов требуется особо тщательный подход. На основе схемы выработки и исследования условных рефлексов у белых крыс, применявшейся в лаборатории Л. И. Котляревского, в процессе работы в токсикологической лаборатории Института имени Ф. Ф. Эрисмана была создана методическая разработка,

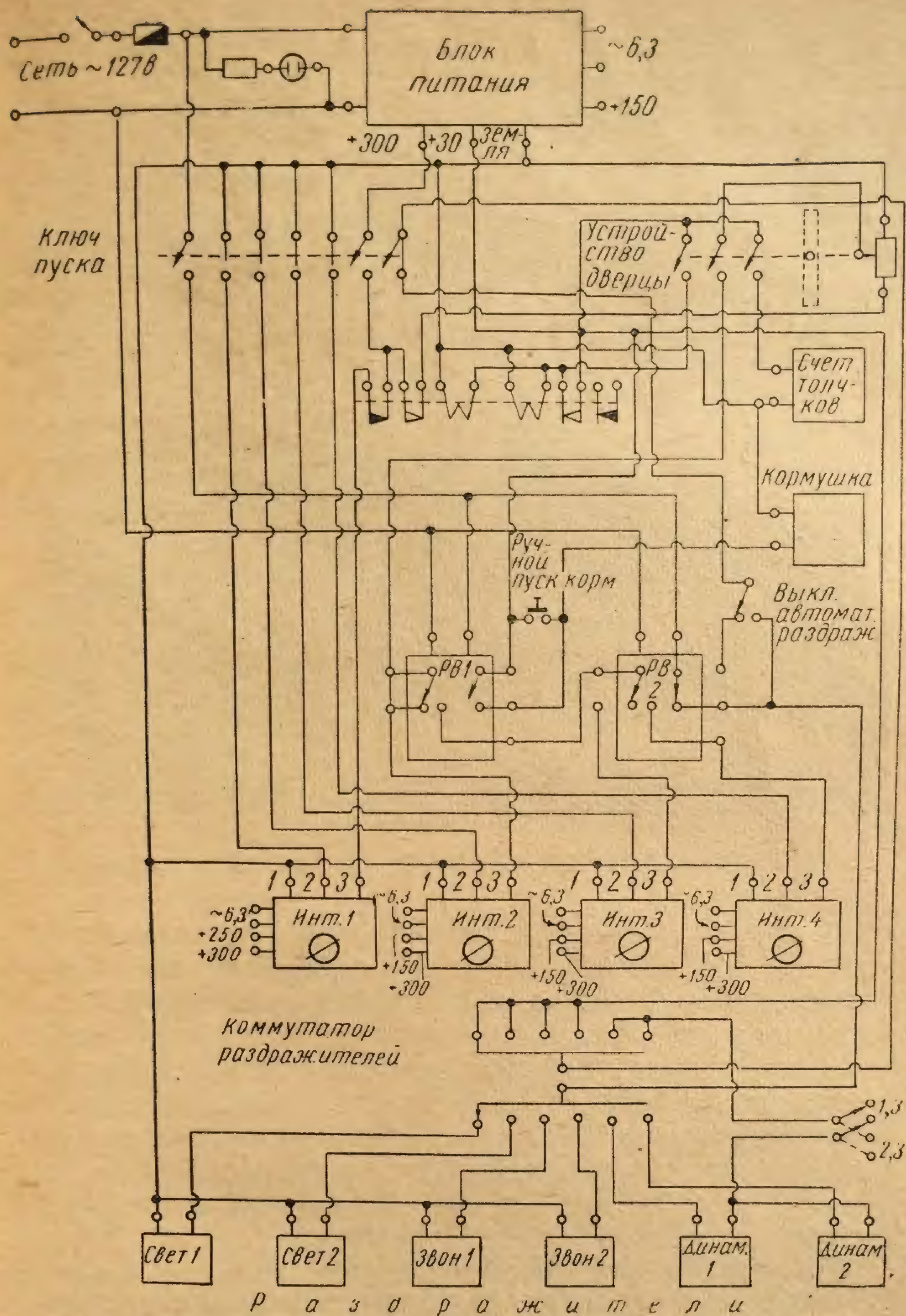


Рис. 226. Принципиальная схема установки Н. И. Лосева и В. Е. Миклашевского для объективной регистрации показателей и автоматизации управления опытом при исследовании двигатель-пищевых условных рефлексов у мелких животных.

направленная к систематизации порядка и характера исследований, а также стандартизации условий экспериментов, проводимых различными авторами (А. Г. Бухтияров, О. Н. Елизарова, С. М. Павленко, В. Н. Тугаринова).

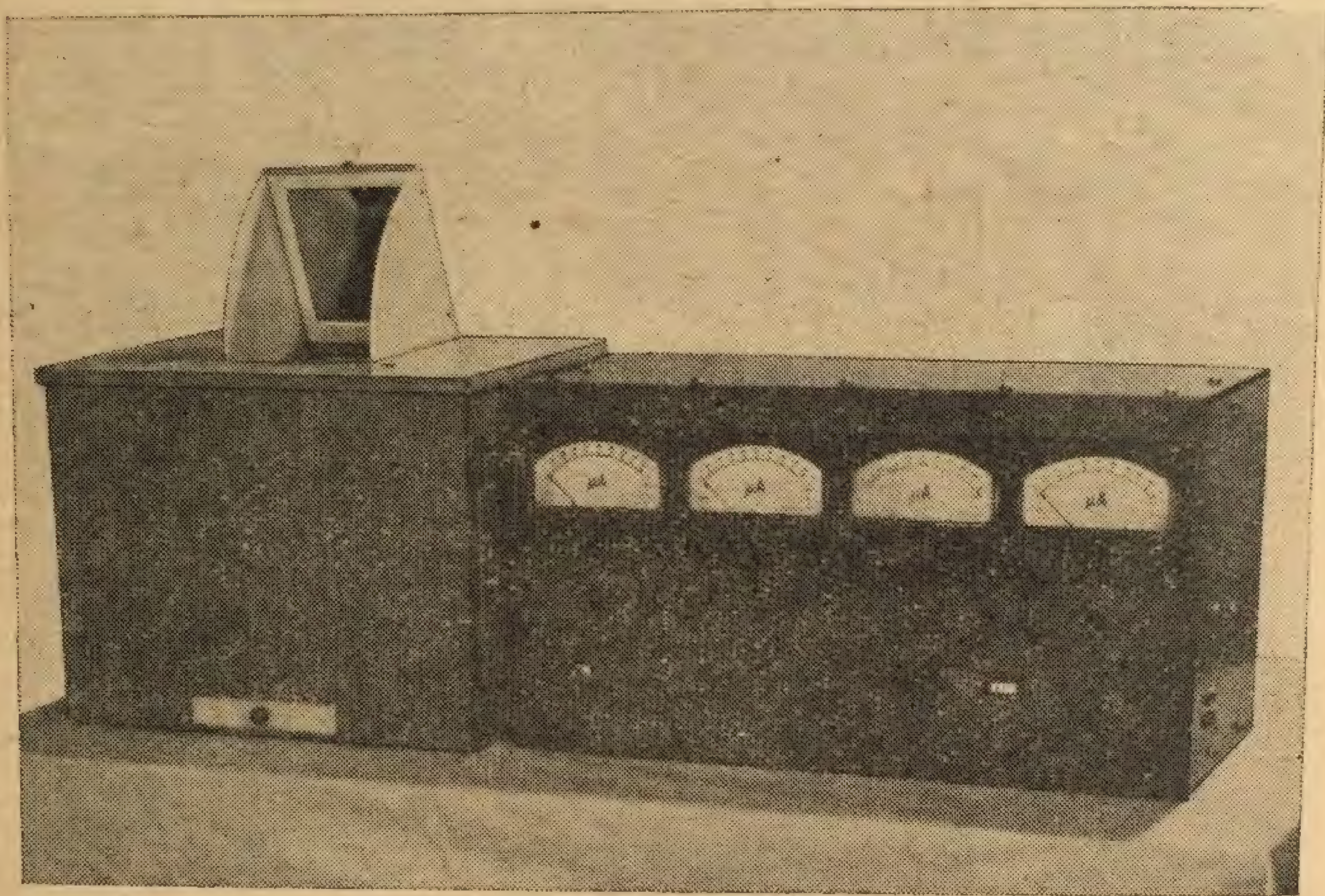


Рис. 23. Общий вид установки Н. И. Лосева и В. Е. Миклашевского.

Ввиду ограниченного тиража этой брошюры мы считаем целесообразным привести в данном руководстве основные положения (по разрешению соавторов).

Экспериментальное изучение хронического воздействия малых пороговых количеств токсических веществ на условнорефлекторную деятельность подопытных животных включает два этапа: 1) подготовка животных к опыту; 2) изучение динамики условнорефлекторной деятельности в период воздействия исследуемого вещества.

Подготовка животных к опыту включает: а) выработку условных рефлексов (положительных и отрицательных); б) установление стереотипа условных рефлексов; в) изучение типологических особенностей высшей нервной деятельности белых крыс; г) определение фона нормальной условнорефлекторной деятельности животных.

При проведении исследований необходимо соблюдать ряд условий.

Условия работы. Для работы лучше отбирать активных крыс, у которых не отмечается резко выраженного пассивного торможения при внешних раздражениях (например, на легкий стук, открывание дверцы клетки, протягивание руки по направлению к животному и т. д.) Подопытных крыс следует брать руками, не причиняя им боли. Обычно молодые крысы быстро привыкают к экспериментатору, не кусаются, делаются совершенно ручными.

Выработка условных рефлексов, а затем и изучение их изменений под влиянием тех или иных химических веществ должны производиться по возможности в одних и тех же условиях. Изменения внешней среды могут отразиться на условнорефлекторной деятельности животных, поэтому, для того чтобы их учесть, следует отмечать метеорологическую обстановку (температуру наружного воздуха, атмосферное давление, наличие дождя, грозы и т. п.).

Исследование условных рефлексов у крыс можно проводить в любые часы, но всегда в одно и то же время. Крысы по своему стереотипу жизнедеятельности более активны в вечерние и ночные часы. Некоторые авторы (Г. И. Ширкова) считают возможным работать с крысами два раза в день, проводя второй опыт через 3—4 часа после первого.

Желательно, чтобы с животными работал всегда один и тот же экспериментатор. Замена экспериментатора может привести к изменению состояния условнорефлекторной деятельности крыс. Если имеется необходимость проводить работу с одними и теми же животными двум экспериментаторам, лучше с самого начала начинать работу вдвоем, посменно.

Для того чтобы крысы охотно поедали подкормку (шарики белого хлеба весом около 1 г или семена подсолнуха, особенно любимые крысами), в течение всего периода опыта на ночь следует оставлять пищи столько, чтобы крысы ее съедали вечером и в первую половину ночи. Если работа будет производиться во вторую половину дня, утром животным можно давать молоко. Необходимым условием является примерно одинаковая возбудимость пищевого центра во всех опытах.

Форма № 1

Часы, минуты, секунды	Раздра- житель	Порядко- вый номер раздражи- теля	Время изоли- рованного действия раздражителя	Время общего действия раздражителя	Время ла- тентного периода	Величина ис- кусственной условной реакции	Величина натурального условного рефлекса	Взятие подкормки	Примеча- ние
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

На каждую крысу заводится тетрадь для записи протоколов опытов, где с первого же дня работы отмечается состояние животного, все особенности его поведения, характер реакции и т. п. С момента дачи первого условного раздражителя запись исследования ведется по обычно принятой определенной форме (см. форму № 1).

В графе «Примечание» отмечается поведение крысы в камере (двигательная активность, отношение к подкормке, наличие ориентировочного рефлекса, поведение между сигналами, толчки дверцы, почесывание, умывание и т. п.).

Образование положительных и отрицательных условных рефлексов. Эксперимент начинается с приучения животного к обстановке камеры, с угашения ориентировочного рефлекса на камеру, приучения брать подкормку из кормушки, самостоятельно открывая дверцу. Эта стадия работы является для экспериментатора в высшей степени ценной, так как при этом обрисовываются индивидуальные черты поведения животного. Чтобы повысить возбудимость пищевого центра, крысам перед первым сеансом на ночь оставляют лишь молоко.

Часы, минуты, секунды	Раздражитель	Порядковый номер раздражителя	Время изолированного действия раздражителя	Время общего действия раздражителя	Время латентного периода	Величина искусственной условной реакции	Величина натурального условного рефлекса	Взятие подкормки	Примечание
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

На каждую крысу заводится тетрадь для записи протоколов опытов, где с первого же дня работы отмечается состояние животного, все особенности его поведения, характер реакции и т. п. С момента дачи первого условного раздражителя запись исследования ведется по обычно принятой определенной форме (см. форму № 1).

В графе «Примечание» отмечается поведение крысы в камере (двигательная активность, отношение к подкормке, наличие ориентировочного рефлекса, поведение между сигналами, толчки дверцы, почесывание, умывание и т. п.).

Образование положительных и отрицательных условных рефлексов. Эксперимент начинается с приучения животного к обстановке камеры, с угашения ориентировочного рефлекса на камеру, приучения брать подкормку из кормушки, самостоятельного открывая дверцу. Эта стадия работы является для экспериментатора в высшей степени ценной, так как при этом обрисовываются индивидуальные животные черты поведения животного. Чтобы повысить возбудимость пищевого центра, крысам перед первым сеансом на ночь оставляют лишь молоко.

Ориентировочный рефлекс на камеру у крыс сильного типа высшей нервной деятельности угашается довольно быстро: через 3—5 минут они обращают внимание на подкормку, которая находится в кормушке, и начинают есть. Дверцу к кормушке экспериментатор сначала держит открытой, затем немного опускает, приоткрывая ее только тогда, когда крыса устремляется к кормушке. Затем крыса сама толкает закрытую дверцу и достает подкормку. У таких животных выработку условных рефлексов можно начинать после того, как крыса самостоятельно несколько раз откроет дверку. У некоторых животных, впервые помещенных в камеру, преобладает пассивно-оборонительная реакция: они лежат, не двигаясь, в течение всего опыта, который обычно длится 10—15 минут. Пассивно-оборонительная реакция чаще встречается у крыс слабого типа высшей нервной деятельности. Для того чтобы крыса ее преодолела, нужно ждать иногда 15—20 минут. У таких животных в камере часто наступает мочеиспускание и дефекация. Требуется несколько дней, чтобы животное приучилось брать подкормку, самостоятельно открывая дверцу. С крысами слабого типа приходится долго и терпеливо работать. Однако если у крысы в течение 5 сеансов не будет угашена пассивно-оборонительная реакция, то животное с точки зрения задач санитарно-токсикологического эксперимента нецелесообразно оставлять в опыте, так как это приведет лишь к неоправданному затягиванию отработки исходного фона.

Вначале вырабатывается положительный условный рефлекс на более сильный раздражитель. Чаще всего применяется звонок, однако при наличии звукогенератора целесообразнее пользоваться снимаемым с него сигналом, поскольку последний можно точно дозировать по силе и частоте. Звонок не должен быть слишком интенсивным, так как чрезмерный звуковой раздражитель часто вызывает у крысы судорожное состояние. Тембр и сила звонка должны быть всегда более или менее одинаковыми.

Первый раз условный раздражитель дается с отставлением от подкормки, чтобы определить реакцию животного на раздражитель, затем даются совпадающие сигналы, т. е. звонок и подкормка одновременно. После 2—3 совпадающих сигналов, если крыса быстро реагирует на подкормку, делают небольшое (на 2—3 секунды) отставление. Иногда уже к этому времени у крысы появляется

условный рефлекс на звонок — она толкает дверцу на звук звонка, не дожидаясь, когда ей бросят подкормку. Если условного рефлекса еще нет, то продолжают давать совпадающие сигналы, повторяя через 1—2 раза отставление. Когда появился условный рефлекс, отставление доводят до 5 секунд. Условный рефлекс на звонок считается укрепившимся, когда на 10 сигналов подряд имеется условная реакция.

После 3—4 опытов при наличии стойких условных рефлексов на звонок можно приступить к выработке других условных рефлексов. Некоторые экспериментаторы начинают с выработки дифференцировки. Это обусловлено тем, что дифференцировка у крыс обычно вырабатывается с трудом, для укрепления ее приходится давать много сигналов (иногда более 100), поэтому желательно начинать эту работу как можно раньше. Другие авторы считают, что у крыс слабого типа и тормозимых выработка дифференцировки может отразиться на выработке второго положительного рефлекса на свет. Поэтому после укрепления положительного рефлекса на звонок эти авторы приступают к выработке условного положительного рефлекса на свет. При включении условного светового сигнала должно иметься существенное различие в силе света по сравнению с обычным освещением камеры. Выработка условного рефлекса на свет происходит так же, как и на звонок. Опыт начинается с дачи звонка, чтобы не могло произойти угашения рефлекса на этот раздражитель, а затем даются только световые сигналы. Для того чтобы условные рефлексy на звонок и свет были одинаковыми по степени их укрепления (так как иначе нельзя будет устанавливать силовые отношения между ними), работа по такой схеме ведется до тех пор, пока количество сигналов на свет и звук не будет примерно одинаковым.

Дифференцировочным сигналом, т. е. сигналом, на который никогда не дается подкормка, обычно служит звук зуммера, который отличается от звонка по тону и силе. Более удобно и методически правильнее пользоваться (как и при выработке положительного рефлекса) звуковым сигналом, получаемым от звукового генератора. С самого начала дифференцировочный сигнал лучше ставить на то место, которое он будет занимать в стереотипе или в крайнем случае постоянно менять его место, чтобы

не выработать у животного стереотип, который потом будет трудно изменять. Для ускорения выработки дифференцировки тормозной сигнал можно давать два раза в опыт, если у крысы не ослабляются реакции на последующие положительные раздражители. Дифференцировку считают укрепившейся, если крыса не отвечает на сигнал 5 раз подряд. Однако встречаются животные, у которых не удается получить прочной дифференцировки. С ними иногда приходится начинать исследование действия токсического вещества на фоне неукрепившейся дифференцировки.

Если у животного имеются интерсигнальные реакции, надо постараться их погасить, оставляя животное в камере на некоторое время и не давая ему ни сигналов, ни подкормки. Крыса дает вначале интерсигнальные реакции (т. е. открывает дверцу к кормушке без условного раздражителя), но так как она не получает подкормки, этот рефлекс постепенно угашается. Угашенные интерсигнальные реакции могут появиться при воздействии на животное токсических веществ. Интерсигнальные реакции обозначаются в графе «примечание» (например, вертикальными черточками).

Время действия сигнала обычно продолжается 10 секунд (из них 5 секунд изолированного действия). Сигнал надо давать тогда, когда крыса сидит головой к кормушке в положении «готовности» («дежурит»). Это приводит к выработке у животного рефлекса на «место». Если рефлекс на «место» не выработан, то время латентного времени будет в какой-то мере зависеть и от величины пространства, которое надо преодолеть крысе, чтобы подойти к дверце.

Промежуток времени между сигналами может колебаться от 1 до 3 минут в зависимости от положения крысы в камере и поведения животного. В процессе выработки положительных рефлексов на отдельные раздражители и дифференцировки количество сигналов во время одного сеанса может быть произвольным. Если крыса хорошо справляется с нагрузкой, то в один опыт дают до 10—15 сигналов. Если у животного начинаются нарушения условнорефлекторной деятельности, то нагрузку уменьшают, делают кратковременные перерывы (на 2—3 дня).

Выработка стереотипа. К выработке стереотипа приступают после того, как укрепятся оба положи-

тельных и дифференцировочный рефлекс. Так как дифференцировка у крыс вырабатывается в ряде случаев с трудом, иногда приходится начинать работу со стереотипом с неукрепившейся дифференцировкой.

Стереотип может включать различное количество сигналов (от 5 до 11) в любом сочетании в зависимости от поставленной задачи. В хронических санитарно-токсикологических исследованиях чаще применяется стереотип, состоящий из семи сигналов (например, звонок, свет, свет, звонок, зуммер, звонок, свет). При этом более сильный раздражитель стоит в стереотипе на первом месте, сильный и слабый раздражители находятся рядом, количество сигналов на звонок и свет одинаково.

На выработку стереотипа требуется примерно около месяца, а иногда и больше. В процессе укрепления стереотипа в отдельных случаях может иметь место выпадение положительных условных рефлексов, растормаживание ранее укрепившейся дифференцировки и неправильные силовые взаимоотношения в виде фазовых состояний. Укрепленный стереотип характеризуется стабильными показателями положительных условных рефлексов, прочной дифференцировкой и правильными силовыми взаимоотношениями.

Для того чтобы наглядно представить выработку стереотипа, на каждую крысу составляют таблицу по форме № 2. Таблица позволяет легко выявить наличие фазовых состояний, выпадений рефлексов, срыва дифференцировки, последовательного торможения.

Определение типологических особенностей высшей нервной деятельности животных. Представление о типологических особенностях крыс складывается на основании совокупности данных предшествующих наблюдений за животными и с помощью проведения специальных функциональных проб. Для характеристики раздражительного процесса важное значение имеет скорость появления и закрепления реакций на положительные условные раздражители, величина рефлекса и латентного периода, устойчивость (процент наличия) положительных условных рефлексов. Для животных, относящихся к сильному типу, характерно относительно быстрое образование условных рефлексов. Рефлексы у них устойчивы, величина реакции на положительные раздражители обычно больше, а латентный

Форма № 2

Звонок I		Свет I		Свет 2		Звонок 2		Дифференцировка		Звонок 3		Свет 3	
латентный период	величина ус-ловной реак-ции	латентный период	величина ус-ловной реак-ции	латентный период	величина ус-ловной реак-ции	латентный период	величина ус-ловной реак-ции	латентный пе-риод нарушения	величина на-рушения	латентный период	величина ус-ловной реак-ции	латентный период	величина ус-ловной реак-ции
1	2	3	4	5	6	7	8	9а	9б	10	11	12	13

период меньше, чем у животных, относящихся к слабому типу. У последних для образования условных рефлексов требуется значительно большее число сочетаний, а в процессе работы нередко наблюдаются выпадения условных положительных рефлексов, особенно на слабый раздражитель.

Существенным показателем силы активного тормозного процесса является скорость выработки дифференцировки, ее укрепление и постоянство (или процент растормаживания). У животных, обладающих сильным тормозным процессом, прочная дифференцировка образуется значительно быстрее, чем у животных со слабым тормозным процессом. Срыв дифференцировки у животных, относящихся к сильному типу, почти не наблюдается. Замедленное упрочение дифференцировки может зависеть от недостаточности активного торможения (при нормальных показателях процесса возбуждения) или является следствием значительного преобладания раздражительного процесса (относительная слабость тормозного процесса).

Звонок 1		Свет 1		Свет 2		Звонок 2		Дифференцировка		Звонок 3		Свет 3	
латентный период	величина условной реакции	латентный период	величина условной реакции	латентный период	величина условной реакции	латентный период	величина условной реакции	латентный период нарушения	величина нарушения	латентный период	величина условной реакции	латентный период	величина условной реакции
1	2	3	4	5	6	7	8	9а	9б	10	11	12	13

период меньше, чем у животных, относящихся к слабому типу. У последних для образования условных рефлексов требуется значительно большее число сочетаний, а в процессе работы нередко наблюдаются выпадения условных положительных рефлексов, особенно на слабый раздражитель.

Существенным показателем силы активного тормозного процесса является скорость выработки дифференцировки, ее укрепление и постоянство (или процент растормаживания). У животных, обладающих сильным тормозным процессом, прочная дифференцировка обрывается значительно быстрее, чем у животных со слабым тормозным процессом. Срывов дифференцировки у животных, относящихся к сильному типу, почти не наблюдается. Замедленное упрочение дифференцировки может зависеть от недостаточности активного торможения (при нормальных показателях процесса возбуждения) или является следствием значительного преобладания раздражительного процесса (относительная слабость тормозного процесса).

У подобных животных прочной дифференцировки получить не удастся.

О способности тормозного процесса к концентрации судят по наличию положительной индукции и последовательного торможения. В процессе выработки дифференцировки вначале после действия дифференцировочного сигнала обычно наблюдается последовательное торможение, что проявляется в ослаблении реакции животного на следующий за дифференцировочным сигналом положительный раздражитель, а иногда и в полном выпадении рефлекса. В последующем в процессе тренировки у животных, обладающих сильным тормозным процессом, концентрация его усиливается, последовательное торможение почти или полностью исчезает и может появиться выраженная положительная индукция. При слабом тормозном процессе, сочетающемся с некоторой недостаточностью раздражительного процесса, последовательное торможение в большей или меньшей степени сохраняется.

Определенное значение для суждения о подвижности нервных процессов имеют данные о ритме работы животного. Необходимый промежуток времени между раздражителями, через который животное оказывается способным реагировать на сигналы, в значительной мере определяется подвижностью нервных процессов. При хорошей подвижности минимальный интервал между раздражителями, при котором животное сохраняет способность правильно отвечать на раздражители (т. е. сохраняется правильность силовых отношений в реакциях), значительно короче (1—2 минуты), чем при слабой подвижности нервных процессов (3—3½ минуты).

Наличие фазовых состояний также может быть использовано в известной мере для характеристики типологических особенностей животных. Так, у крыс, относящихся к слабому типу высшей нервной деятельности, обычно довольно часто встречаются фазовые состояния.

Для выявления индивидуальных типологических особенностей подопытных животных большое значение имеют наблюдения за их поведением, реакцией на натуральные и безусловные раздражители (пищевой, оборонительный, ориентировочный рефлексы). У некоторых крыс при наличии искусственного условного рефлекса может

отсутствовать натуральный условный рефлекс — крыса не толкает дверцу, когда подкормка уже лежит в кормушке, не берет корм. Эти явления чаще встречаются при воздействии токсических веществ, сигнализируя о тяжелых поражениях центральной нервной системы.

Кроме перечисленных данных, для характеристики типологических особенностей высшей нервной деятельности подопытных животных и испытания основных свойств нервных процессов (силы, уравновешенности и подвижности) проводится ряд специальных проб. Ниже приводится краткое описание тех из них, которые наиболее часто применяются в санитарно-токсикологических опытах на крысах.

а) *Условнорефлекторная деятельность на фоне повышенной пищевой возбудимости.* И. П. Павлов указывал, что голодание — лучшая проба силы типа высшей нервной деятельности животных. Состояние условнорефлекторной деятельности после суточного или двухсуточного голодания будет различным в зависимости от типологических особенностей подопытного животного. Реакция на раздражители может либо усиливаться, либо ослабляться в зависимости от силы раздражительного процесса. При сильном раздражительном процессе на фоне повышенной пищевой возбудимости реакция на обычные условные раздражители усиливается, что проявляется в укорочении латентных периодов и увеличении силы реакции на положительные раздражители. В некоторых случаях повышается только эффект от слабых раздражителей, который иногда бывает даже выше эффекта от сильных раздражителей. При слабом раздражительном процессе в этих условиях положительные условные раздражители становятся чрезмерными и вызывают развитие запредельного торможения вплоть до полного исчезновения реакции. Недостаточность тормозного процесса или преобладание раздражительного процесса в этих условиях проявляется в срыве дифференцировки. Эти исследования в известной мере позволяют также определить степень возможного напряжения нервной клетки, ее работоспособность. Равноценной можно считать пробу с введением кофеина.

б) *Влияние на условнорефлекторную деятельность внешнего тормоза.* В качестве внешнего тормоза исполь-

зуется какой-либо достаточно интенсивный («конкурирующий») посторонний раздражитель (чаще — гудок, сирена, свисток и т. п.), дающийся непосредственно перед сильным положительным раздражителем (в течение 5 секунд) или одновременно с предъявлением последнего (в первые 2—3 секунды действия условного сигнала).

У крыс, относящихся к слабому типу высшей нервной деятельности, посторонний раздражитель резко тормозит реакцию на последующий условный положительный раздражитель, иногда вплоть до полного ее выпадения. У животных сильного типа внешний тормоз может не оказать существенного влияния на условнорефлекторную реакцию.

в) *Проба продления дифференцировки.* Влияние продления времени действия дифференцировочного раздражителя на реакцию животного имеет существенное значение для характеристики силы активного торможения и его уравновешенности с раздражительным процессом. У животных, обладающих слабым тормозным процессом или неуравновешенных (с преобладанием раздражительного процесса, т. е. относительной слабостью активного торможения), это ведет к срыву дифференцировки, а иногда и к некоторому временному нарушению реакции на последующие положительные условные раздражители. Показателем является также время, через которое наступил срыв дифференцировки, величина растормаживания и количество толчков дверцы кормушки, которое сделала крыса. У животных, обладающих сильным тормозным процессом, продление времени действия дифференцировочного раздражителя не ведет к срыву дифференцировки и нарушениям реакции на дальнейшие положительные условные раздражители. Обычно дифференцировка продлевается до 3 минут независимо от реакции животного.

г) *Угашение и восстановление положительного условного рефлекса.* Обычно производится угашение реакции на сильный положительный раздражитель. Оно позволяет составить представление о силе нервных процессов и в какой-то мере об их подвижности. Это исследование проводится в один сеанс. Вначале дается один положительный раздражитель с подкреплением, а затем положительный условный раздражитель не подкрепляется.

Животное отвечает обычной условной реакцией на искусственный положительный раздражитель, но затем, после ряда напрасных попыток получить подкормку, происходит постепенное угашение рефлекса. Рефлекс считается угашенным, когда крыса не ответит на звонок 10 раз подряд. Некоторые авторы считают для угашения достаточным отсутствие рефлексов на 5 сигналов подряд. После угашения положительного рефлекса сейчас же начинается его восстановление: дают, как обычно, звонок и через 5 секунд подкормку. Если при восстановлении крыса ответит на первый сигнал, то это означает, что угашения не произошло и надо снова его производить. Чаще крыса восстанавливает рефлекс на 2—3-й сигнал. Восстановление считается законченным, когда у животного появится условная реакция на 5 сигналов подряд. При слабой подвижности нервных процессов, особенно при преобладании раздражительного процесса над активным торможением, приходится многократно давать раздражитель без подкрепления, прежде чем положительный условный рефлекс угаснет. При хорошей подвижности нервных процессов и силе активного торможения угашение и восстановление происходят значительно быстрее.

д) *Проба на положительную индукцию* позволяет судить о способности раздражительного и тормозного процессов к концентрации. Исследование положительной индукции проводится путем предъявления положительного раздражителя непосредственно после действия дифференцировочного сигнала. Если вслед за этим развивается последовательное торможение, появляются фазовые состояния, то это указывает на плохую концентрацию процесса торможения или слабость раздражительного процесса.

В практике физиологических исследований, кроме указанных выше проб, применяется еще ряд других (увеличение физической силы раздражителя, введение брома, переделка стереотипа, скорость образования западывающего рефлекса, скорость образования следового рефлекса и т. п.). Однако в санитарно-токсикологических исследованиях применение данных проб не является необходимым, так как они не обуславливаются задачами исследования и значительно удлиняют период подготовки животных, что является нежелательным при постановке хронических опытов.

Описанные выше исследования проводятся в разное время. Проба на угашение и восстановление проводится вскоре после укрепления положительного рефлекса на звонок или после укрепления стереотипа. При этом прочность условного рефлекса на звонок должна быть у всех крыс примерно одинаковой.

Продление действия дифференцировочного раздражителя и выявление положительной индукции производят на фоне укрепленной дифференцировки. Исследования в условиях повышенной возбудимости пищевого центра и влияния внешнего тормоза проводятся после укрепления стереотипа.

Каждое из перечисленных исследований характеризует различные особенности процессов в нервной системе. Так, о силе раздражительного процесса судят по скорости появления и укрепления условных рефлексов, величине реакции и длительности латентного периода, устойчивости условных рефлексов (процент их) по результатам исследования в условиях повышенной пищевой возбудимости и применения внешнего тормоза, данным о наличии (степени выраженности) положительной индукции и последовательного торможения. Силу тормозного процесса характеризуют скорость появления и укрепления дифференцировки и ее постоянство, результаты, полученные при продлении времени дифференцировочного сигнала, а также указанные выше данные о положительной индукции и последовательном торможении (имеющие, таким образом, двойное значение). Скорость угашения и восстановления положительного рефлекса в первую очередь тоже характеризует силу активного торможения и в некоторой мере указывает на подвижность нервных процессов. О подвижности процессов косвенно позволяет также судить наличие положительной индукции или последовательного торможения. Об уравновешенности процесса судят по всей совокупности данных о силе тормозного и раздражительного процессов.

Для определения типологических особенностей каждого животного целесообразно все полученные данные свести в таблицу (форма № 3).

В таблице отмечают номера сигналов, на которые появились и укрепились положительные условные рефлексy на звонок и свет и дифференцировка; отражаются процессы угашения и восстановления положительного ус-

№ крысы	Рефлексы положительные				Дифференцировка		Угашение		Восстановление		Продление диффе- ренци- ровки	Действие внешнего тормоза	Результа ты пробы с голода- нием
	на звонок		на свет		появ- ление	укрепле- ние	нача- ло	пол- ное	нача- ло	полное			
	появле- ние	укреп- ление	появле- ние	укреп- ление									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

Проба на положи- тельную индукцию	Наличие последо- вательного торможения	Положительные условные рефлексы						Дифференци- ровка		Характеристика ин- терсигнальных реак- ций		Типологическая характеристика
		величина		латентный период		количество выпадений		величина расторма- живания	процент нарушений	количество	величина	
		на звук	на свет	на звук	на свет	на звук	на свет					
15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25a	25б	26

ловного рефлекса, время сохранения дифференцировки и величина растормаживания при продлении дифференцировочного сигнала до трех минут и все остальные пробы, которые были сделаны в процессе выработки условных рефлексов; регистрируется средняя величина рефлекса и латентного периода положительных условных рефлексов, а также наличие интерсигнальных реакций. Однако даже такая таблица не может полностью охарактеризовать типологические особенности животного. Поэтому необходимо на каждую крысу составить подробное описание с указанием данных всех других наблюдений. Сюда входят: поведение крысы с самого начала выработки у нее условных рефлексов, реакция на обстановку камеры и различные раздражители; наличие рефлекса на «место»; поведение животного после трудных задач; реакция на неожиданное изменение ситуации, не зависящее от экспериментатора; поведение между сигналами.

На основании совокупности всех полученных данных можно судить о типологических особенностях животного.

И. П. Павлов и его сотрудники на основании изучения высшей нервной деятельности собак выделили четыре основных типа ее: сильный неуравновешенный, сильный уравновешенный подвижный, сильный уравновешенный инертный, слабый. Но они не исчерпывают все типологические особенности. И. П. Павлов неоднократно указывал, что вариантов высшей нервной деятельности значительно больше. В литературе описано наличие переходных, промежуточных типов высшей нервной деятельности, которые нельзя уложить полностью ни в один из ранее описанных типов.

Некоторые авторы считают возможным ориентироваться на указанные четыре основных типа высшей нервной деятельности также при типологической классификации кроликов (П. В. Терентьев, В. Б. Дубинина и Г. А. Новиков) и крыс (Г. И. Ширкова). Другие, считая, что провести полную аналогию между типами высшей нервной деятельности собак и мелких лабораторных животных нельзя, выделяют среди последних лишь три типологических варианта. В отношении кроликов такой классификации придерживаются А. И. Карамян и Л. А. Пронин, в отношении белых крыс — Л. И. Котляревский.

Приведенные данные показывают отсутствие единого мнения по вопросу о типах высшей нервной деятельности мелких лабораторных животных. Вопрос о том, насколько правильны эти суждения, мы в данной работе разбирать не можем. Уместно, однако, указать, что ярко выраженные типы у мелких лабораторных животных встречаются редко и большую часть животных приходится относить к промежуточным вариантам. Во всяком случае экспериментатору необходимо возможно полно по разным показателям, подробно указанным выше, оценить высшую нервную деятельность животных с тем, чтобы можно было равномерно распределить их по группам, вводя в контроль таких же по типам высшей нервной деятельности животных, как и в подопытных группах. Это необходимо также для правильной оценки действия токсических веществ. Большинство авторов считает, что тип высшей нервной деятельности в значительной мере определяет характер и напряженность защитных реакций организма, а следовательно, и течение патологических процессов, что особенно ярко выражено при действии малых доз токсических веществ в хроническом эксперименте. У животных слабого типа высшей нервной деятельности действие промышленных ядов обычно проявляется более ярко и в более ранние сроки.

*Исследование условнорефлекторной деятельности
в хроническом санитарно-токсикологическом
эксперименте*

Для установления фона нормальной условнорефлекторной деятельности животных обычно достаточно показателей, полученных за 10—15 сеансов после укрепления стереотипа. Опыты ставятся ежедневно или через день.

Исследование условнорефлекторной деятельности подопытных и контрольных животных проводится систематически на протяжении всего санитарно-токсикологического исследования по тому же стереотипу, что и при установлении фона. Допускается проведение проверки условных рефлексов через один — два дня, так как ежедневная проверка на протяжении хронического опыта может явиться слишком большой нагрузкой для нервной системы животных. У животных, как подопытных, так и

контрольных, на протяжении хронического опыта могут быть проведены различные пробы, приведенные выше. Полученные результаты сравниваются с показателями подобных исследований, проведенных до начала воздействия токсического вещества, а также с изменениями, полученными у контрольных животных.

Кроме данных функциональных проб, при анализе изменений условнорефлекторной деятельности животных в санитарно-токсикологическом исследовании обычно учитываются следующие показатели: 1) изменения со стороны положительных условных рефлексов (процент их, продолжительность латентного периода, величина реакции) на каждый раздражитель отдельно; 2) силовые взаимоотношения условных реакций на различные по силе положительные раздражители (звонок, свет); при этом сравниваются ответные реакции на положительные раздражители, стоящие рядом друг с другом до дифференцировочного сигнала; отмечаются наличие и частота фазовых состояний: уравнительная и парадоксальная фазы; 3) состояние дифференцировки (процент растормаживания); 4) наличие последовательного торможения, выраженность его; 5) наличие и характер натуральных и безусловных рефлексов.

Основные *статистические приемы* обработки конкретных физиологических показателей, посредством которых может быть дана объективная совокупная оценка условнорефлекторной деятельности животных в токсикологическом эксперименте, суммированы в статье В. Е. Миклашевского и В. Н. Тугариновой.

«Ускоренные» варианты методики изучения условных рефлексов

Подготовка животных с полной выработкой стереотипа и определением типологических особенностей животных требует сравнительно длительного времени ($2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$ месяца). Стремясь сократить время подготовки животных и сделать этот тест более чувствительным, некоторые авторы попытались проводить изучение скорости выработки и укрепления условных рефлексов на фоне введения токсического вещества. З. Э. Григорьевым и А. А. Голубевым было выявлено, что влияние малых доз токсических веществ на условные рефлексы в процессе их выработки (так называемые молодые рефлексы) про-

является быстрее, чем на прочно закрепленные условные рефлексы.

Поскольку методика изучения динамики и скорости выработки условных рефлексов на фоне интоксикации имеет преимущества по сравнению с ранее применявшимся методом, она находит все более широкое применение в токсикологической практике. Но если многолетняя работа в области изучения изменений условнорефлекторной деятельности крыс под влиянием токсических веществ позволила четко отработать методику с закрепленным стереотипом и проводится она единообразно, то «ускоренную» или «укороченную» методику изучения условных рефлексов применяют в самых различных вариантах. При одном варианте введение токсических веществ и выработку условных рефлексов начинают почти в одно и то же время (после 3—4 сеансов). Этот метод оказался чувствительным по указанию многих авторов (З. Э. Григорьев, Я. Г. Двоскин и др.). Недостатком данного методического варианта является невозможность учета типологических особенностей животных.

При другом варианте изучаются изменения так называемых молодых условных рефлексов на разных этапах укрепления стереотипа. В сравнительных исследованиях (В. Г. Лаппо, Я. Г. Двоскин) были проведены опыты с введением различных токсических веществ у животных двух групп: 1) с закрепленным одним положительным рефлексом и с начатой выработкой второго положительного условного рефлекса; 2) с выработанным, но не закрепленным стереотипом (стереотип применялся 2—3 раза). Исследования показали, что при обоих вариантах изменения условнорефлекторной деятельности наступали раньше, чем у животных с прочно закрепленным стереотипом. Время подготовки значительно сокращалось — для выработки и закрепления одного положительного условного рефлекса требовалось примерно 8—10 дней. В процессе выработки положительного условного рефлекса можно было ориентировочно наметить, к каким типам высшей нервной деятельности относятся животные (характер ориентировочной реакции, поведение животного в камере, быстрота выработки и укрепления положительного условного рефлекса). Более точно удалось определить типологические особенности в тех случаях, ког-

да введение токсического вещества начиналось на фоне незакрепленного стереотипа. Время же подготовки животных и в этом случае было значительно меньшим, чем при подготовке животных с прочно закрепленным стереотипом.

Выбор вариантов подготовки животных для изучения условнорефлекторной деятельности под воздействием токсических веществ зависит от целей опыта и возможностей экспериментатора.

Глава 5

НЕКОТОРЫЕ ПРИЕМЫ ОБРАБОТКИ ПОЛУЧЕННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ДАННЫХ

Экспериментальная работа заканчивается анализом и обработкой полученных материалов. Необходимым условием для этого является подробное и точное ведение протоколов опытов. На основании данных опытов составляются таблицы. Анализ полученных материалов помогает графическое изображение показателей.

СПОСОБЫ ГРАФИЧЕСКОГО ИЗОБРАЖЕНИЯ

Графически можно изображать результаты одного опыта или обобщенные данные. Если графической обработке подлежат материалы хронического опыта (например, кривые веса, изменения условнорефлекторной деятельности и т. п.), то рекомендуется производить эту обработку регулярно с самого начала опыта. Это позволит своевременно отметить те или иные изменения, происходящие под влиянием токсических веществ.

Основные виды графического изображения, которые чаще применяются в санитарно-токсикологическом исследовании, — это диаграммы линейные, плоскостные и точечные (П. А. Кувшинников, Л. С. Каминский).

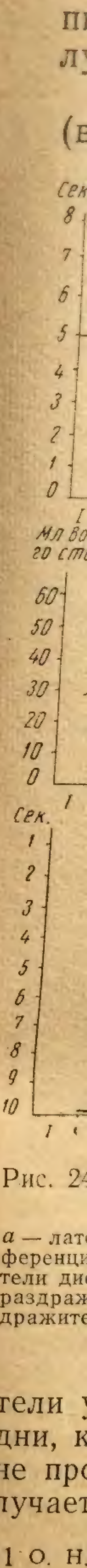
Линейная диаграмма дает графическое изображение показателей при помощи линии. Чаще она применяется для изображения данных, показывающих изменения явлений во времени. На оси абсцисс обычно отмечаются отрезки времени в одинаковом масштабе. Чтобы не создавать растянутые рисунки, можно прибегать к разрывам в оси абсцисс. По оси ординат в избранном

масштабе откладывают величины (или проценты) соответствующих показателей. На поле диаграммы наносят точки, отражающие соотношение величин показателя (ось ординат) в разные отрезки времени (ось абсцисс). Все точки (координаты) соединяют между собой линией. В результате получается линейное изображение показателя в динамике.

Как правило, точку пересечения оси абсцисс с осью ординат приравнивают к нулю, но можно взять и другие исходные величины показателей, откладываемых на каждой оси, одинаковые для всех диаграмм одного типа, иначе сравнение их будет затруднено.

Размеры масштабов, взятых по оси ординат и оси абсцисс, должны строго сочетаться друг с другом. Они должны быть в таком соотношении, чтобы возможно лучше отразить характер динамики явления, которое представлено на графике (П. А. Кувшинников).

В санитарно-токсикологическом исследовании линейные диаграммы находят широкое применение. В качестве примера приводим графическое изображение опытов с изучением условнорефлекторной деятельности. Весь стереотип может быть представлен в пяти линейных диаграммах. На первой диаграмме представлены латентные периоды реакций на оба положительных раздражителя до дифференцировки, на второй — величина рефлексов на те же раздражители, на третьей — показатели дифференцировки, на четвертой и пятой — отражены характеристики положительных условных рефлексов после дифференцировочного сигнала (на четвертой — длительность латентного периода, на пятой — величина реакции). По оси абсцисс отмечены дни опыта. По оси ординат — время латентного периода (в секундах) или величины реакции (в условных единицах). При изображении латентного периода на оси ординат откладывают отрезок, соответствующий десяти секундам. При наличии искусственного положительного условного рефлекса точки кривой наносят на отрезки высотой до 5 секунд, а при наличии только натурального рефлекса — между 5-й и 10-й секундами. При регистрации состояния дифференцировки отрезок оси ординат, равный 10 делениям, соответствует выдержанной в течение 10 секунд дифференцировке. При растормаживании отмечают показатели времени, после которого насту-



пило растормаживание. Желательно отмечать также силу реакции при нарушении дифференцировки (рис. 24).

Целесообразно по оси абсцисс отмечать время (в днях) в течение всего периода эксперимента. Показа-

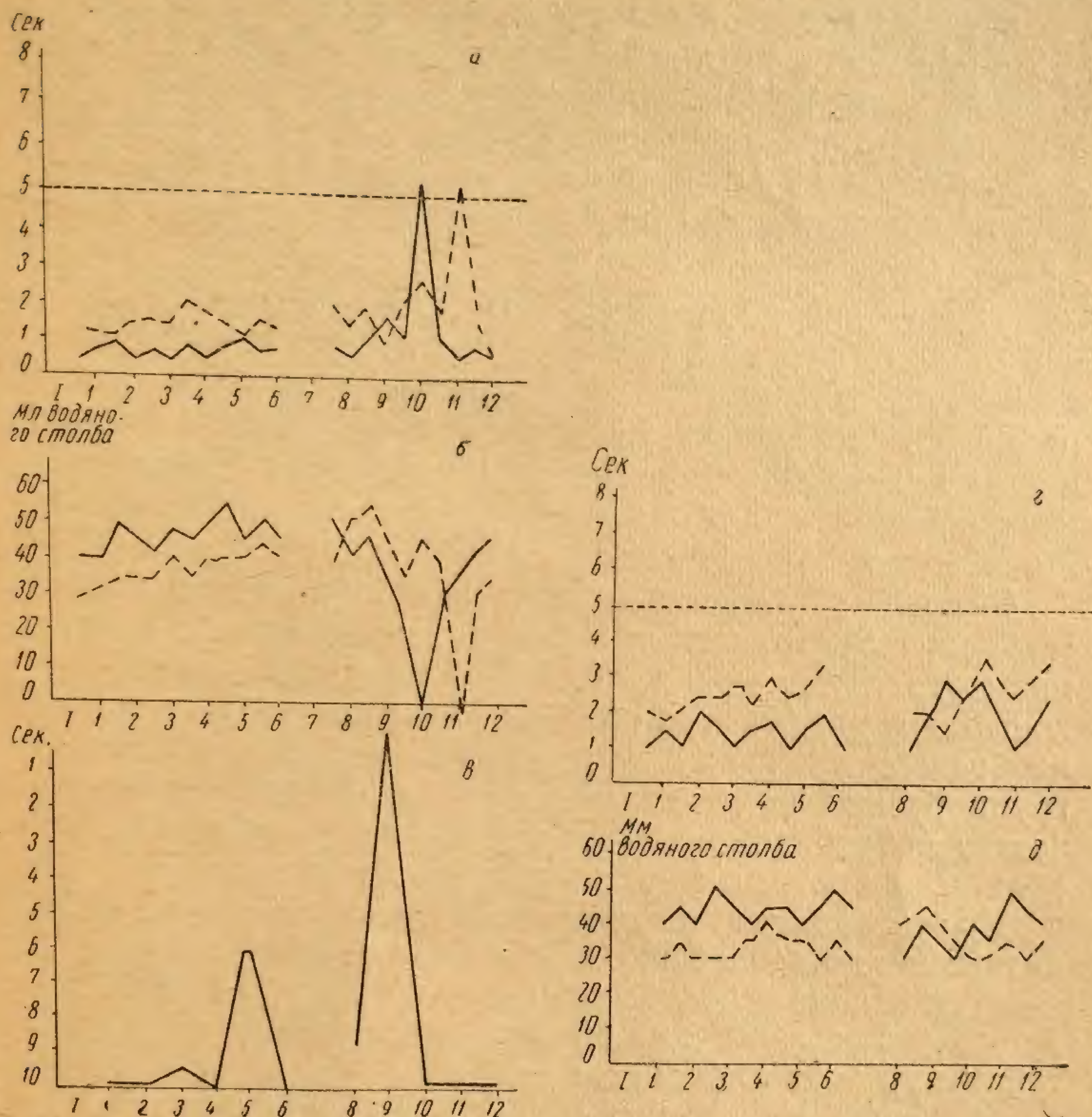


Рис. 24. Графическое изображение показателей опытов с изучением условнорефлекторной деятельности крыс.

а — латентные периоды реакций на оба положительных раздражителя до дифференцировки; б — величина рефлексов на те же раздражители; в — показатели дифференцировки; г — латентные периоды реакций на оба положительных раздражителя после дифференцировки; д — величина реакции на те же раздражители. В кривых а, б, в, г сплошной линией обозначена реакция после воздействия звонка, прерывистой — после воздействия света.

тели условнорефлекторной деятельности наносят в те дни, когда проводились исследования, а дни, когда они не производились, остаются пустыми. Хотя кривая получает прерывистый вид, зато ясно видны изменения в

зависимости от продолжительности хронического эксперимента (А. Г. Бухтияров, О. Н. Елизарова, С. М. Павленко, В. Н. Тугаринова).

Линейными диаграммами можно изображать абсолютные цифровые показатели, полученные в опыте (например, латентный период в секундах, количество эритроцитов в миллионах, лейкоцитов в тысячах и т. п.), и относительные показатели, выраженные в процентах, что более удобно для сравнения. В последнем случае показатели до начала введения токсического вещества принимаются за 100%.

На линейных диаграммах шкала помещается на левой стороне, все другие надписи и цифры обычно пишут на нижнем и правом крае диаграммы, избегая надписей на поле диаграммы. Если диаграмма очень длинная, шкалу приходится помещать не только на левой стороне, но и на правой. На одной диаграмме не следует размещать более 3—4 кривых.

В плоскостных диаграммах показатели изображаются геометрическими фигурами, например в виде прямоугольников, квадратов, треугольников и т. п. Плоскостные диаграммы применяют главным образом для изображения показателей, не зависящих друг от друга и группируемых по отдельным признакам, например количество потребляемого кислорода у подопытных и контрольных животных с подразделением на самцов и самок.

По оси ординат наносят шкалу для характеристики показателей, по оси абсцис строят геометрические фигуры, изображающие отдельные показатели и разнящиеся между собой по высоте. Для большей наглядности между фигурами делают небольшие разрывы, но можно располагать фигуры вплотную друг к другу (так называемые связанные диаграммы).

Наиболее распространены столбиковые диаграммы, где показатели изображены в виде прямоугольников одинаковой ширины, но разной высоты. Каждый столбик начинается с нуля. Шкалу показателей можно нанести на ось абсцисс, тогда все прямоугольники пойдут в горизонтальном направлении.

Особым видом плоскостной диаграммы является секторная диаграмма, применяемая в тех случаях, когда желательно продемонстрировать, из каких составных частей складывается тот или иной показатель (например,

отд
фор
вел

про
пор
рав
пок
раз
В п
впи

зате
угол
моу
штр
пока
угол

Е
точ
зате
орди
каче
заче
тик
щая
шин

П
мож
и то
друг
М
изобр
работ

П
менте
тить,
совпа
буетс

отдельные виды клеток, составляющих лейкоцитарную формулу у животных до и после введения токсического вещества).

Для построения секторной диаграммы рисуют круг произвольного радиуса. Круг делят с помощью транспортира на 100 равных секторов — угол каждого из них равен $3,6^\circ$. Вычисляют процентное отношение каждого показателя, умножая его величину на 3,6. Затем круг разбивают на секторы соответствующих размеров. В центре можно оставить небольшую окружность, куда вписывают абсолютную величину изображаемого целого.

Для изображения изменений составных частей показателя в динамике можно пользоваться рядом прямоугольников одинаковых размеров. Каждый прямоугольник делят на 100 разных частей, а затем штрихуют столько частей, сколько их имеется в каждом показателе, входящем как составная часть в прямоугольник.

Большой наглядностью обладает так называемая точечная диаграмма, т. е. нанесение координат показателей на сетку, образованную осью абсцисс и осью ординат, в виде точек (если показатели различные по качеству, то и обозначения могут иметь разный вид — зачерненный кружок, маленький треугольник, квадратик и т. п.). Получается наглядная картина, показывающая общую тенденцию отдельных явлений (П. А. Кувшинников, Л. С. Каминский).

Показатели контрольных и подопытных животных можно представлять на разных диаграммах или на одном и том же графике (помещая их рядом или накладывая друг на друга).

Мы привели только простейшие приемы графического изображения, которые с успехом используются в научной работе.

СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ

При обработке материалов, полученных в эксперименте, используют статистические методы. Следует отметить, что при сопоставлении опытов, результаты которых совпадают, обычно статистической обработки не требуется. Но если эффект в одних случаях наблюдается,

а в других не имеется или разнится по количественному выражению, то достоверность сделанных выводов должна быть подтверждена статистической обработкой. Некоторые из требований статистических методов исследования должны быть учтены уже при планировании эксперимента (расчет числа необходимых наблюдений, качественная однородность объектов опыта и т. п.).

Статистическая обработка позволяет оценить достоверность отмеченных различий, обнаружить связи там, где без этой обработки они могли быть не обнаружены, придает выводам количественную определенность и т. п.

Общие статистические приемы обработки материалов эксперимента на животных, применимые в различных областях исследования, описаны в специальных руководствах по медицинской статистике (А. Я. Боярский, П. А. Кувшинников, Л. С. Каминский, И. А. Вигдорчик и др.). В данной книге целесообразно остановиться на примерах, специфичных для санитарно-токсикологических исследований. Сюда относится построение кривых индивидуальной чувствительности и определение средне-смертельных доз.

Построение кривых индивидуальной чувствительности

Кривые индивидуальной чувствительности могут отражать самые различные показатели воздействия токсических веществ на организм. В качестве примера приводим построение кривой индивидуальной чувствительности к летальному действию ядов.

Эту кривую строят на основании величин смертности животных, полученных экспериментальным путем при введении им различных доз исследуемого вещества. Форма полученной кривой индивидуальной чувствительности может в какой-то степени характеризовать токсикодинамику яда [В. М. Карасик, А. Дж. Кларк (A. J. Clark)].

Кривая строится на основании данных, полученных по всей амплитуде доз, начиная с наибольшей дозы, еще не вызывающей гибели животных (т. е. с максимально переносимой дозы), и кончая наименьшей дозой, при введении которой погибают все животные (т. е. абсолютно смертельной дозой). По оси ординат обозначают количество животных (обычно в процентах), по-

гибших от токсического вещества, а по оси абсцисс — дозы этого вещества. Такая кривая, по предложению Тревэна, получила название «характеристической кривой». В рассматриваемом случае она является кривой зависимости процента смертности животных данного вида от дозы изучаемого яда. Кривая в идеальном случае имеет S-образный вид, но в случаях, когда она строится на цифрах, полученных непосредственно в эксперименте, может принимать ломаный вид. Участки снижения отражают меньшую смертность животных от больших доз. Чтобы избежать этого, надо возможно больше стандартизировать объекты исследования и брать достаточное количество животных, исходя из принципа, что чем больше животных будет взято в опыт на каждую дозу, тем меньше будет ощущаться индивидуальная чувствительность животных и тем более правильной будет кривая (В. М. Карасик).

Современные методы обработки результатов, полученных при изучении верхних параметров токсичности, позволяют ограничиться сравнительно небольшим количеством животных (6—8 животных в каждой серии).

Широкое применение нашел метод интегрирования по Беренсу (S. Behrens). Он называется также методом Риды и Менча. Изучение взаимоотношений между дозой яда и токсическим эффектом, производившееся рядом исследователей (Н. С. Правдин, В. М. Карасик, Н. В. Лазарев и др.), позволяет признать достоверным предположение Беренса, что животное, перенесшее отравление, вызванное определенной дозой яда, выжило бы и при введении ему меньшей дозы того же яда. И наоборот, животное, погибшее от данной дозы яда, погибло бы при введении ему большей дозы яда.

В качестве примера приводим расчет кривой индивидуальной чувствительности для животных, которым вводили талловое масло (табл. 7). Если сопоставить соответствующие величины, вычисленные по непосредственным результатам эксперимента и после их интегрирования, можно увидеть, что в первом случае они не всегда располагаются последовательно (например, дозы 6,3 и 7,2 г/кг). Это отражает разницу в индивидуальной чувствительности животных. После интегрирования про-

цент смертности оказывается в прямой корреляции с дозами вещества (чем больше доза, тем выше процент смертности). Построенная на основании интегрированных данных характеристическая кривая принимает более правильный вид, приближаясь к S-образной (рис. 25).

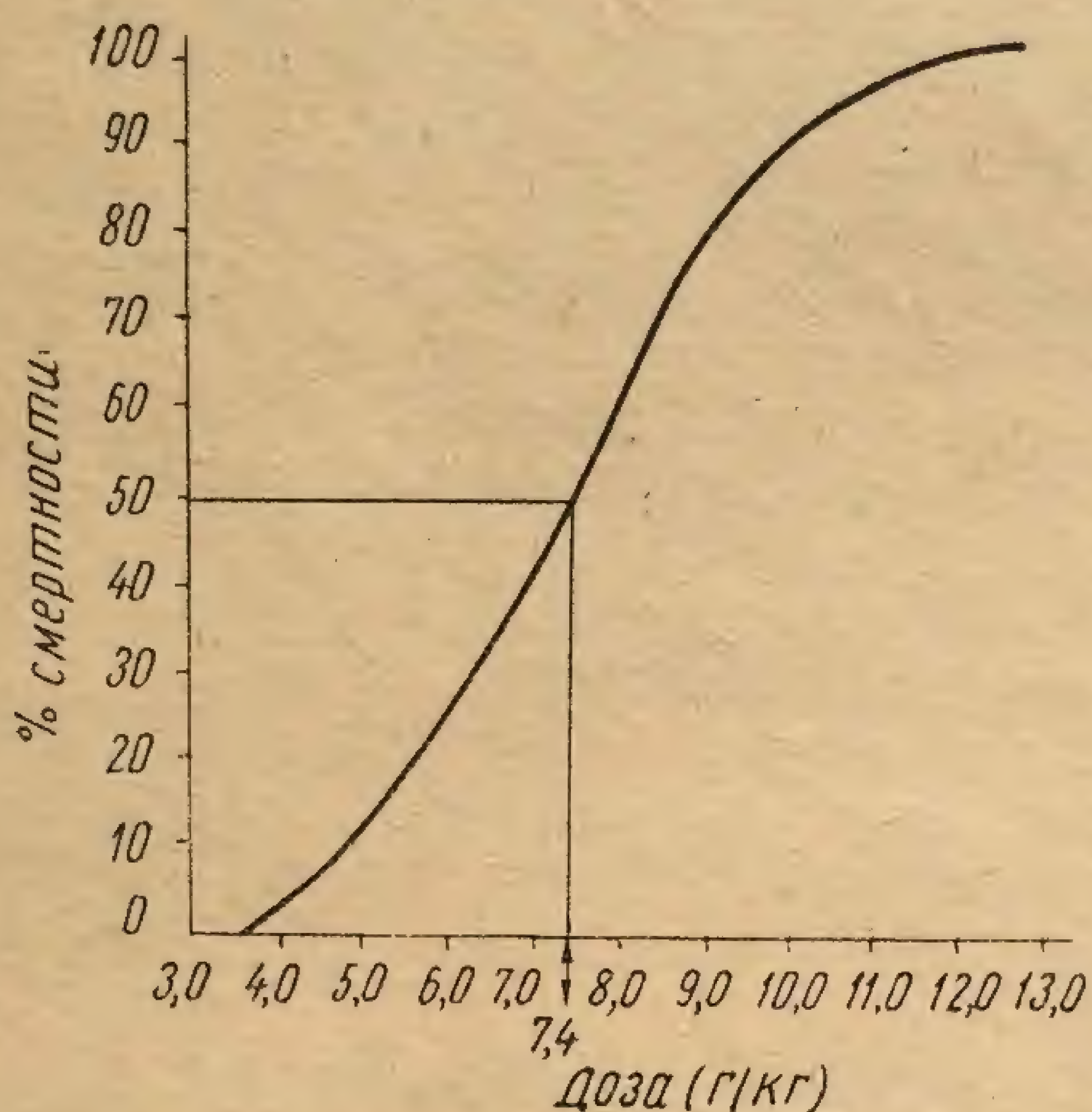


Рис. 25. Характеристическая кривая после интегрирования по Беренсу.

Таблица 7

Кривая индивидуальной чувствительности белых мышей при введении им перорально таллового масла

Доза г/кг	Число живот- ных	Непосредственные данные эксперимента			Данные после интегрирования		
		выжило	погибло	% гибели	выжило	погиб- ло	% ги- бели
3,6	10	10	0	0	46	0	0
4,5	10	8	2	20	36	2	5,2
5,4	10	6	4	40	28	6	17,5
6,3	10	5	5	50	22	11	33,3
7,2	10	6	4	40	17	15	46,7
8,1	10	4	6	60	11	21	65,6
9,0	10	3	7	70	7	28	80,0
9,9	10	2	8	80	4	36	90,0
10,8	10	1	9	90	2	45	95,7
11,7	10	1	9	90	1	54	98,1
12,6	10	0	10	100	0	64	100,0

Метод «беренсирования» требует соблюдения некоторых условий: для испытания каждой дозы следует использовать одинаковое количество животных (не менее 6), между дозами должны быть равные интервалы. При выборе доз обычно прибегают к арифметической прогрессии (например, 1, 2, 3, 4, 5 и т. д. или 5, 10, 15, 20 и т. д.). Правда, дозы, взятые в арифметической прогрессии, отличаются друг от друга не кратно. Так, дозы 5 и 10 разнятся в 2 раза, а дозы того же ряда 50 и 55 — лишь на 10%. Это заставило Г. Н. Першина предложить пользоваться при выборе доз геометрической прогрессией, в частности применять ряды Фульда, представляющие собой геометрические прогрессии с начальным членом 10^n и знаменателем $\sqrt[m]{10}$, где n — любое положительное или отрицательное число, а m — любое положительное целое число, отличное от нуля. Удобство этих рядов заключается в том, что они содержат одни и те же соотношения величин во всех разрядах единиц. Конкретный ряд рекомендуется выбирать в зависимости от количества используемых для опыта животных. Например, для опытов, в которых каждая доза испытывается на 5 животных, подходят следующие ряды:

1, 0—1, 5—2, 1—3, 2—4, 6—6, 8—10, 0—15,0

1, 0—1, 4—1, 9—2, 7—3, 7—5, 2—7, 2—10, 0—14,0.

Для опытов, в которых доза испытывается на 10 животных, можно применить ряды:

1, 0—1, 3—1, 8—2, 4—3, 2—4, 2—5, 6—7, 5—10, 0—13,0.

1, 0—1, 3—1, 7—2, 1—2, 8—3, 6—4, 6—6, 0—7, 7—10, 0—13,0.

Для построения характеристической кривой можно применить и некоторые другие приемы.

Сюда относится, например, так называемая скользящая кривая. Суть этого приема заключается в том, что каждый показатель в полученном ряду заменяется средней из двух соседних показателей. Вычисляют попарные средние, затем попарные средние из этих средних и т. п., пока не получится результат, позволяющий хорошо видеть тенденцию данного ряда в целом (А. Я. Боярский). Этот метод может быть применен для построения характеристической кривой, если в эксперименте было проверено действие достаточного количества доз исследуемого вещества.

Другим методом является выравнивание способом наименьших квадратов. В качестве примера приводим характеристическую кривую для животных, которым вводилось талловое масло, выведенную М. С. Кацеленбаумом.

Для выравнивания кривой служит уравнение регрессии, принимающее формулу уравнения прямой линии $y = a + bx$. Составление этого уравнения основано на способе наименьших квадратов, для чего необходимо построить корреляционную или расчетную решетку из 9 вертикальных столбцов (табл. 8).

Таблица 8

Кривая индивидуальной чувствительности белых мышей
при введении им перорально таллового масла

Дозы, г/кг	x (условный ряд)	% погибших животных	y		x ²	xy	Исправлен- ный y	Исправленный % погибших животных
			число по- гибших животных	поряд- ковый №				
3,6	+5	0	0	y ₁	25	0	1,2	12
4,5	+4	20	2	y ₂	16	8	2,1	21
5,4	+3	40	4	y ₃	9	12	3,0	30
6,3	+2	50	5	y ₄	4	10	3,9	39
7,2	+1	40	4	y ₅	1	4	4,9	49
8,1	0	60	6	y ₆	0	0	5,8	58
9,0	-1	70	7	y ₇	1	-7	6,7	67
9,9	-2	80	8	y ₈	4	-16	7,7	77
10,8	-3	90	9	y ₉	9	-27	8,6	86
11,7	-4	90	9	y ₁₀	16	-36	9,5	95
12,6	-5	100	10	y ₁₁	25	-50	10,4	104

$$n = 11$$

$$a = \frac{\Sigma y}{n}$$

$$\Sigma y = 64$$

$$a = \frac{64}{11} = 5,8$$

$$\Sigma x^2 = 110 \quad \Sigma xy = 102$$

$$b = \frac{\Sigma xy}{\Sigma x^2} = \frac{-102}{110} = -0,93$$

$$y = a + bx$$

$$y_1 = 5,8 + (-0,93 \times 5) = 5,8 - 4,6 = 1,2$$

$$y_2 = 5,8 + (-0,93 \times 4) = 5,8 - 3,7 = 2,1$$

$$y_3 = 5,8 + (-0,93 \times 3) = 5,8 - 2,8 = 3,0$$

$$y_4 = 5,8 + (-0,93 \times 2) = 5,8 - 1,9 = 3,9$$

$$y_5 = 5,8 + (-0,93 \times 1) = 5,8 - 0,9 = 4,9$$

$$y_6 = 5,8 + (-0,93 \times 0) = 5,8$$

$$y_7 = 5,8 + [-0,93 \times (-1)] = 5,8 + 0,9 = 6,7$$

$$y_8 = 5,8 + [-0,93 \times (-2)] = 5,8 + 1,9 = 7,7$$

$$y_9 = 5,8 + [-0,93 \times (-3)] = 5,8 + 2,8 = 8,6$$

$$y_{10} = 5,8 + [-0,93 \times (-4)] = 5,8 + 3,7 = 9,5$$

$$y_{11} = 5,8 + [-0,93 \times (-5)] = 5,8 + 4,6 = 10,4$$

Вычисляют основные величины, входящие в формулу $y = a + bx$, а именно $a = \frac{\sum y}{n}$ и $b = \frac{\sum xy}{\sum x^2}$. Вычисленные величины a и b дают возможность через посредство условного ряда x (см. ниже) определить в абсолютных числах исправленное число погибших животных при нарастающей или убывающей дозе яда. Эти теоретически исправленные значения гибели животных вносят в соответствующую колонку на одной линии с фактическим числом погибших животных (y_1, y_2 и т. д.). После этого заполняют колонку с исправленными процентами гибели животных.

Условный ряд x заполняют следующим образом. Если вариационный ряд нечетный (число групп животных в опыте), то в средней вертикальной графе ставят 0, а затем вверх и вниз ставят последовательный ряд цифр по порядку: $-1, -2, -3$ и т. д.; $+1, +2, +3$ и т. д. Плюсом отмечают дозы, убывающие по отношению к находящейся в середине, с минусом — дозы нарастающие. Если ряд четный, то пользуются порядковыми номерами: $-1, -3, -5, -7$ и т. д.; $+1, +3, +5, +7$ и т. д.

При способе наименьших квадратов обязательно сохранение постоянного интервала или коэффициента между дозами (арифметическая или геометрическая прогрессия). Одинаковое количество животных не обязательно, но желательно. Так как в уравнение $y = a + bx$ входят все находящиеся под опытом животные, т. е. учитываются результаты всех испытанных доз, то можно считать, что метод выравнивания опирается на общее число животных. По мнению М. С. Кацеленбаума, метод выравнивания по наименьшим квадратам значительно строже, чем метод Беренса, применение его не имеет такого ограничения, как число подопытных животных, что должно учитываться при применении метода Беренса. Последний, однако, в техническом отношении значительно проще и при правильном его применении дает примерно те же результаты, что и метод выравнивания по прямой.

Вычисление средней смертельной дозы

Среднюю смертельную дозу можно вычислить графическим методом на основании интегрированной по Беренсу кривой. Для этого из точки на кривой, соответствующей 50% смертности, сле-

дует опустить перпендикуляр на абсциссу, где отложены дозы вещества. Найденное число будет соответствовать ДЛ₅₀. В рассмотренном выше случае она равна 7,5 г/кг (см. рис. 25).

Пользуясь для выравнивания кривой методом наименьших квадратов, также можно вычислить ДЛ₅₀. Для этого в расчетной решетке отыскивают две дозы — A и B , дающие теоретически одна более 50%, а другая — менее 50% гибели животных; соответствующие им проценты смертности обозначают a_1 и b_1 . Величину ДЛ₅₀ определяют путем прямолинейного интерполирования между ближайшими к ней дозами. Таким образом,

$$\text{ДЛ}_{50} = A - \frac{a_1 - 50}{a_1 - b_1} \cdot d,$$

где d — постоянный коэффициент между дозами.

Для примера приведем расчет ДЛ₅₀ для таллового масла, на который составлена корреляционная решетка (табл. 8).

$$\text{ДЛ}_{50} = 8,1 - \frac{58 - 50}{58 - 49} \cdot 0,9 = 8,1 - 0,8 = 7,3 \text{ г/кг.}$$

Среднюю смертельную дозу можно высчитать также, пользуясь формулами Г. Н. Першина, Г. Кербера (G. Kärber).

По формуле Першина среднюю смертельную дозу вычисляют при любом виде кривой смертности без предварительного интегрирования. В основу формулы положено определение среднего значения функции. Средняя смертельная доза является средним значением функции, определяющей дозу через смертность. Функциональная зависимость между дозой и смертностью, выраженной в процентах, может быть изображена уравнением: $x = F(y)$, где x — доза вещества, y — смертность животных (в процентах).

По теореме о среднем значении функции:

$$x_{\text{ср.}} = \frac{S_0^{100} F(y) dy}{100 - 0}.$$

Следовательно необходимо определить выражение $S_0^{100} F(y) dy$. Для этого следует учесть, что определенный

интеграл какой-либо функции численно равен площади фигуры, ограниченной линией, изображающей функцию, двумя крайними (определяющими) значениями функции и осью координат. При практическом определении кривой смертности Г. Н. Першин разбивает эту площадь на ряд трапеций. Следует вычислить площадь каждой трапеции и сложить между собой полученные цифры. Тогда сумма будет численно равна интегралу.

$$S_0^{100} F(y) dx = \frac{\Sigma (a+b) \cdot (m-n)}{2}.$$

Деление полученной величины на 100 (если смертность была выражена в процентах) дает значение средней смертельной дозы.

$$ДЛ_{50} = \frac{\Sigma (a+b) \cdot (m-n)}{200},$$

где a и b — соседние дозы; m и n — соответствующие им проценты смертности. Если $m > n$, то произведение $(a+b) \cdot (m-n)$ будет отрицательным и войдет в сумму с отрицательным знаком.

В качестве примера приводим расчет определения средней смертельной дозы пропилового спирта (табл. 9).

Таблица 9

Расчет $ДЛ_{50}$ пропилового спирта по Першину
(опыты на белых мышах)

Доза г/кг	Число животных		Смерт- ность (%)	$a+b$	$m-n$	$(a+b) \cdot$ $\cdot (m-n)$
	всего	погибло				
0,4	5	0	0			
0,8	5	1	20	1,2	+20	24
1,6	10	2	20	2,4	0	0
2,4	5	5	100	4,0	+80	320
3,2	9	4	44	5,6	-56	-313,6
4,0	6	5	83	7,2	+39	280,8
4,8	10	10	100	8,8	+17	149,6

$$\Sigma (a+b) \cdot (m-n) = 460,8.$$

$$\text{Отсюда } ДЛ_{50} = \frac{460,8}{200} = 2,3 \text{ г/кг.}$$

По формуле Кербера средняя смертельная доза рассчитывается следующим образом:

$$ДЛ_{50} = ДЛ_{100} - \frac{\Sigma (z \cdot d)}{m},$$

где z — среднее арифметическое из числа погибших животных в опытах с испытанием двух смежных доз, d — разница величины двух доз, стоящих рядом, m — число животных в каждой группе.

Приводим пример вычисления средней смертельной дозы для пропилового спирта (табл. 10).

Таблица 10

Расчет $ДЛ_{50}$ пропилового спирта по Керберу

Дозы г/кг	Число животных		z	d	$z \cdot d$
	всего	погибло			
0,4	5	0			
0,8	5	1	0,5	0,4	0,2
1,6	10	2	1,5	0,8	1,2
2,4	5	5	3,5	0,8	2,8
3,2	9	4	4,5	0,8	3,6
4,0	6	5	4,5	0,8	3,6
4,8	10	10	7,5	0,8	6,0

$$\Sigma (z \cdot d) = 17,4$$

$ДЛ_{100} = 4,8$ мг/кг; m (в среднем) = 7.

Отсюда $ДЛ_{50} = 4,8 - \frac{17,4}{7} = 4,8 - 2,5 = 2,3$ г/кг.

Метод Кербера не требует равенства интервалов между дозами.

Как видно из приведенных материалов, полученная цифра $ДЛ_{50}$ по методу Кербера весьма близка к таковой, полученной по методу Першина. О том, что указанные методы дают близкие результаты, почти совпадающие с данными, полученными по Беренсу, сообщают и другие авторы. Так, В. М. Карасик отмечает, что цифровые данные значения $ДЛ_{50}$, полученные на многочисленном материале, незначительно отличаются друг от друга при применении графического метода после «беренсирования» и расчетах по формуле Кербера. В. С. Шадурская

и М. Л. Беленький приходят к такому же заключению после сопоставления двух указанных выше методов и расчетов по формуле Першина.

Недостатком всех описанных методов является отсутствие способа для точного установления величины стандартной ошибки $ДЛ_{50}$.

Пробит-анализ

В заключение остановимся на одном из современных методов оценки токсичности изучаемых веществ, в основе которого лежит так называемый пробит-анализ. Выше было указано, что характеристическая кривая отражает зависимость между величинами доз изучаемого химического препарата и частотой учитываемого эффекта в процентах к числу подопытных животных. Анализ данных острого токсикологического эксперимента, при котором нас интересует летальное действие (диапазон смертельных доз — $ДЛ$) исследуемого вещества, основывается на построении именно характеристической кривой или эквивалентной ей прямой. Последний вариант используется в графических методах пробит-анализа.

Теоретически на характеристической кривой, интересующей нас в указанном плане, величина каждой дозы, вызывающей тот или иной процент смертности ($ДЛ_x$), определяется расстоянием (по оси абсцисс) от средней смертельной дозы ($ДЛ_{50}$), выраженным в единицах стандартного отклонения. Последнее тождественно произведению «стандарта теоретического распределения» (St)¹ и «нормального эквивалентного отклонения» (n).

Соответствующие отношения могут быть представлены уравнением: $ДЛ_x = ДЛ_{50} + St \cdot n$

Каждой величине n соответствует определенный процент смертности. Так, при $n=0$ $ДЛ_x = ДЛ_{50}$. Для доз выше $ДЛ_{50}$ n имеет положительное значение (например, при $n=1$ смертность составляет 84%), для доз ниже $ДЛ_{50}$ — отрицательное (для $ДЛ_{16}$ $n=-1$).

Графически зависимость между дозами (логарифмами доз) и соответствующими им нормальными эквива-

$$^1 St = \frac{ДЛ_{84} - ДЛ_{16}}{2}, \quad \text{т. е. одинаков для любой смертельной}$$

дозы ($ДЛ_x$) каждого конкретного токсического вещества (при учете, что каждая из таких доз имеет свой диапазон доверительных границ).

лентными отклонениями выражается прямой линией. Во избежание неудобств, связанных с использованием в процессе обработки материала отрицательных величин, в практику расчетов была введена условная единица «пробит», равная $n+5$ [Блисс (C. J. Bliss)].

Изучение зависимости между логарифмами испытанных доз и пробитами, соответствующими отмеченным летальным эффектам, является точным способом обработки данных острого опыта, не требующим соблюдения таких условий постановки эксперимента, как равенство числа животных в группах или одинаковые интервалы между дозами. Кроме того, он позволяет проводить сравнительную оценку токсической активности исследуемых веществ и вычислять доверительные границы отношений их активностей, что недоступно для описанных выше методов анализа характеристических кривых.

Перевод пробитов в проценты смертности и обратно легко осуществляется при помощи специальных таблиц, прилагаемых к руководствам по фармакодинамике (см., например, М. Л. Беленький).

Наиболее простым из методов графического пробит-анализа является метод Миллера и Тейнтера (L. S. Miller a. M. L. Tainter). Приводим расчет по методу Миллера и Тейнтера верхних параметров токсичности пропилового спирта (расчет произведен В. Е. Миклашевским).

Перед построением графика составляют рабочую таблицу, в графы которой последовательно вносят для каждой подопытной группы: 1) величину дозы; 2) отношение числа погибших животных к их общему количеству; 3) процент смертности и соответствующий ему пробит (табл. 11). Поскольку доз, вызывающих гибель 0 и 100% животных ($ДЛ_0$ и $ДЛ_{100}$), теоретически существовать не может (так как ветви кривой нормального распределения, непосредственно связанной с характеристической кривой, нигде не пересекают ось абсцисс), то для них приходится вводить «исправленные» проценты смертности, вычисленные по формулам Бартлета (см. примечание к табл. 11). Вслед за «исправлением» процентов в таблицу вносят соответствующие им пробиты.

После заполнения граф таблицы переходят к построению графика (рис. 26). Оригинальная разработка данного метода была произведена применительно к логарифмической бумаге, однако необходимый анализ мож-

Таблица 11

Рабочая таблица для пробит-анализа
верхних параметров токсичности
пропилового спирта по Миллеру и Тейнтеру

Доза г/кг	L L+V	Смертность	
		%	пробит
0,4	0/5	$\frac{0,25 \cdot 100}{5} = 5,0$	3,36
0,8	1/5	20,0	4,16
1,6	2/10	20,0	4,16
2,4	5/5	$\frac{(5-0,25) \cdot 100}{5} = 95$	6,64
3,2	4/9	44,4	4,86
4,0	5/6	83,3	5,97
4,8	10/10	$\frac{(10-0,25) \cdot 100}{10} = 97,5$	6,96

Примечание. «Исправленный» процент смертности для $ДЛ_0 = \frac{0,25 \cdot 100}{n}$; для $ДЛ_{100} = \frac{(n - 0,25) \cdot 100}{n}$, где n — число животных в данной серии [по Бартлету (M. S. Bartlett)].

но с успехом осуществить и на обычной «миллиметровке». По оси ординат откладывают значения пробитов (по 0,2—0,4 пробита в 1 см) с соответствующими им процентами смертности (берут из таблицы), а по оси абсцисс — логарифмы испытанных доз. Для последней операции проще всего использовать шкалы счетной линейки, перенося с них величины доз на ось абсцисс при помощи циркуля. При этом по оси автоматически откладываются абсолютные величины (а не логарифмы) доз. На линейке можно пользоваться двумя парами тождественных шкал: 2—3 снизу или 2—3 сверху. Следует лишь иметь в виду, что на нижних шкалах нанесен один цикл величин (от 1 до 10), соответствующий диапазонам доз 0,1—1,0; 1,0—10,0; 100,0—1000,0 г/кг и т. п., а на верхних — два цикла (1—10 и 10—100), охватывающих дозы

0,1—10,0; 10,0—1000,0 г/кг и т. д. При пользовании нижними шкалами результаты точнее (растянутость масштаба).

Руководствуясь нанесенными точками, проводят прямую. Фактически имеющийся разброс точек в большинстве случаев (в частности, и в разбираемом нами) не позволяет провести прямую непосредственно через каждую из них и часто заставляет ориентироваться на промежуточные координаты между двумя соседними точками.

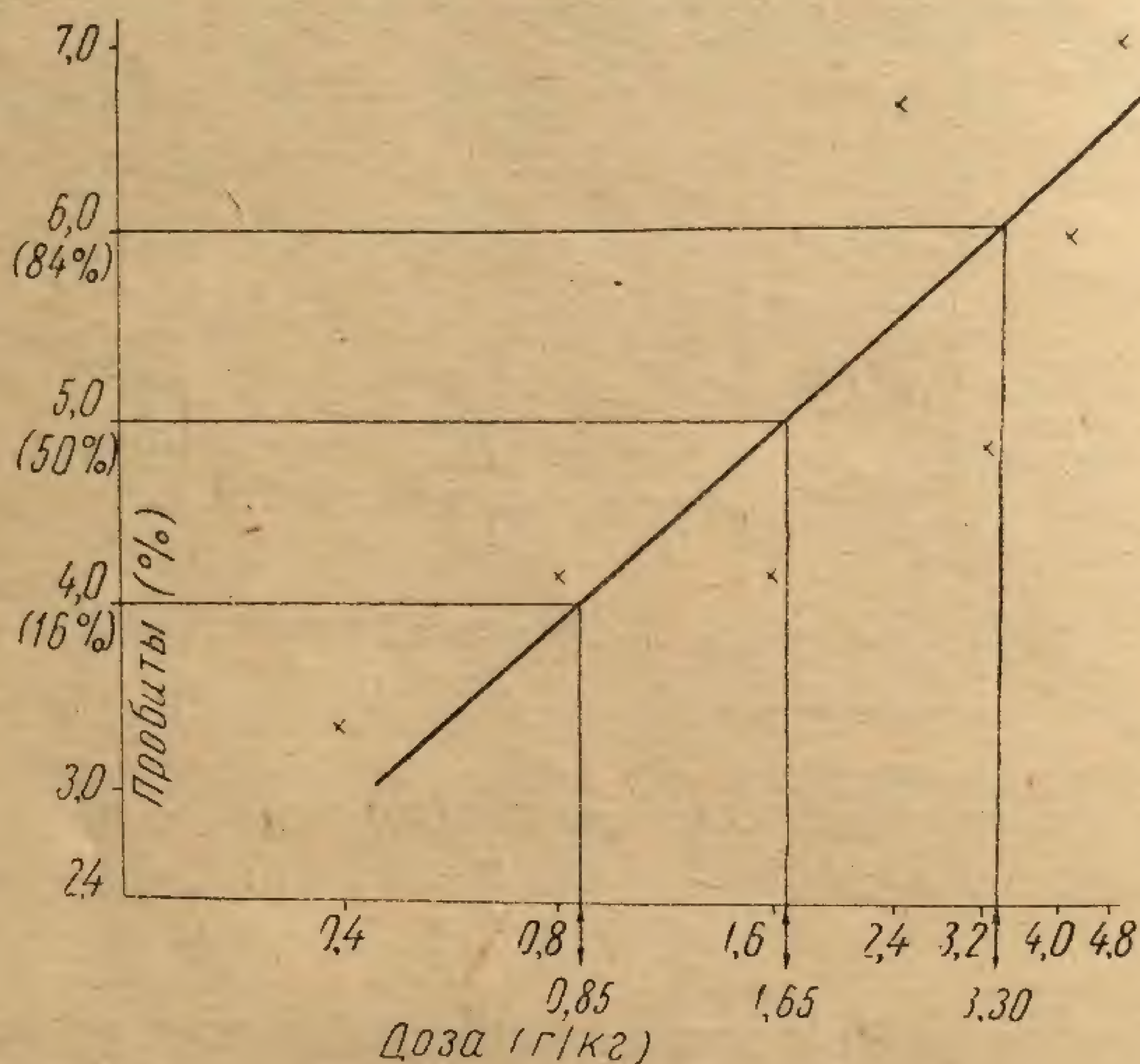


Рис. 26. Графический пробит-анализ по Миллеру и Тейнтеру.

ми. При проведении прямой следует также учитывать, что основное значение имеют точки, находящиеся на уровне от 4 до 6 пробитов (ДЛ₁₆—ДЛ₈₄). Значение точек, входящих в этот диапазон, в свою очередь тем больше, чем ближе они находятся к значению пробита 5,0 (ДЛ₅₀). Проводить прямую удобно при помощи прозрачной линейки. Опустив на ось абсцисс перпендикуляры из точек прямой, соответствующих пробитам 4,0, 5,0 и 6,0, находят величины ДЛ₁₆, ДЛ₅₀ и ДЛ₈₄ путем переноса циркулем расстояния по оси абсцисс на шкалу логариф-

мической линейки (получаем соответственно величины 0,85, 1,65 и 3,30 г/кг). Аналогично можно определить и средние значения любых других смертельных доз (на пример, ДЛ₁ соответствует пробит 2,67; ДЛ₂ — 2,95; ДЛ₅ — 3,36; ДЛ₁₀ — 3,72; ДЛ₉₀ — 6,28; ДЛ₉₅ — 6,64; ДЛ₉₈ — 7,05; ДЛ₉₉ — 7,33 и т. д.).

Ошибку найденной описанным образом ДЛ₅₀ вычисляют по формуле, предложенной авторами метода — Миллером и Тейнтером:

$$m_{ДЛ_{50}} = \frac{ДЛ_{84} - ДЛ_{16}}{\sqrt{2N}},$$

где N — общее число животных в сериях, точки которых на проведенной прямой лежат между значениями пробитов 3,5—6,5. В рассматриваемом нами примере таковыми являются точки для доз 0,8; 1,6; 3,2 и 4,0 г/кг, а следовательно, $N=30$.

Таким образом,

$$m_{ДЛ_{50}} = \frac{3,30 - 0,85}{\sqrt{2 \cdot 30}} = \frac{2,45}{7,75} = 0,315$$

Далее можно установить доверительные границы ДЛ₅₀. Нижняя доверительная граница равна $ДЛ_{50} - m \cdot t$, верхняя = $ДЛ_{50} + m \cdot t$. Значения ДЛ₅₀ и m нам известны, величину t находим по таблице t — распределения (прилагается к руководствам по статистике), учитывая, что нужное нам значение $P=0,05$, а число «степеней свободы», $N - 1 = 29$. При этих условиях $t=2,05$. Следовательно, указанные доверительные границы составляют: $1,65 - 0,315 \cdot 2,05 = 1,0$ и $1,65 + 0,315 \cdot 2,05 = 2,3$.

Полученные результаты позволяют установить, что ДЛ₅₀ пропилового спирта для белых мышей равна: 1,65 (1,0÷2,3) г/кг.

Более совершенным методом графического пробит-анализа является метод Литчфильда и Уилкоксона, позволяющий, в частности, произвести объективную проверку соответствия проведенной прямой нанесенным на график точками. Метод не требует обязательного получения ДЛ₀ и ДЛ₁₀₀ и имеет ряд других преимуществ. В то же время обработка данных по этому методу более сложна и длительна, чем по методу Миллера и Тейнтера. Изложение техники пробит-анализа по Литчфильду

и Уилкоксону мы считаем нецелесообразным, тем более что она уже описана с достаточными подробностями в отечественной литературе (М. Л. Беленький).

Все приведенные методы могут быть использованы не только для определения $ДЛ_{50}$. Их можно применять во всех случаях, когда желательно определить дозу, вызывающую у 50% подопытных животных какой-либо токсический (или фармакологический) эффект, например наступление бокового положения, наличие судорог и т. п. Это необходимо при проведении опытов по изучению сравнительной токсичности ряда веществ.

Статистическая обработка — очень ценный, но все же только подсобный метод. Применять его следует с учетом конкретных условий опыта и полученных конкретных результатов.

Основой для выводов из полученных экспериментальных материалов остается их качественный биологический анализ.

ЛИТЕРАТУРА

К 1-й главе

- Балабанова Е. И. Простой способ фиксирования мышей. Лабораторная практика, 1931, 11—12, 6—7.
- Васильев А. В. Гематология с/х животных, 1948.
- Васильев Л. Л. и Ветюков И. А. Большой практикум по физиологии человека и животных, 1954.
- Возная-Гладилович А. К экспериментальной работе на крысах. Лабораторная практика, 1933, 9—10, 28—28.
- Вредные вещества в промышленности. Ч. I. Л., 1954. Под ред. Лазарева Н. В.
- Гуменер П. И., Кузнецов Е. Ф., Родов А. Б. Методы дистанционного исследования пульса и дыхания в трудовой обстановке. В кн.: Ученые записки Московского института санитарии и гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана, 1959, 1, 13—19.
- Елизарова О. Н., Замыслова С. Д. Предельно допустимая концентрация тетраэтилсвинца в водоемах. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1959, 3, 65—81.
- Елизарова О. Н., Замыслова С. Д. Предельно допустимая концентрация гексогена в водоемах. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1959, 3, 93—106.
- Забезжинская Н. А., Брук Е. С., Озерова В. Ф., Гутковская А. И. Предельно допустимая концентрация нитрила акриловой кислоты в воде водоемов. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1960, 4, 147—155.
- Кравков Н. П. Основы фармакологии, 1927.
- Ковалевский К. Л. Переноска лабораторных животных. Лабораторная практика, 1940, 1, 22—23.
- Ковалевский К. Л. Лабораторные мыши и крысы. М., 1948.
- Ковалевский К. Л. Кролики. М., 1948.
- Ковалевский К. Л. Морская свинка. М., 1948.
- Ковалевский К. Л. Содержание мелких лабораторных животных в вивариях. М., 1949.
- Кучеренко Т. М. Влияние новокаина на температуру тела кроликов. Фармакология и токсикология, 1954, 17, 1, 19—22.
- Лазарев Н. В. Общие основы промышленной токсикологии. М.—Л., 1938.

- Метелкин А. И. Борьба с эктопаразитами белых мышей и крыс в условиях питомника. Лабораторная практика, 1935, 8, 13—17.
- Метелкин А. И. Борьба с клопами в условиях питомника лабораторных животных. Лабораторная практика, 1938, 4, стр. 25—26.
- Метелкин А. И. К методике термометрирования лабораторных животных. Лабораторная практика, 1938, 3, 28—30.
- Метелкин А. И. О клетках для подопытных животных. Лабораторная практика, 1940, 1, 23—25.
- Метелкин А. И. К вопросу об использовании лабораторных животных в научной и практической работе. Лабораторное дело, 1959, 5, 3—5.
- Метелкин А. И. Лабораторные животные. БМЭ. М., 1960, 15, 130—166.
- Мошковский Ш. Д. К методике разметки подопытных мышей. Лабораторная практика, 1933, 3, 13—14.
- Николаев М. П. Учебник фармакологии. М., 1943.
- Ордынский С. И. Методика изучения деятельности дыхания и сердца на интактном животном. Фармакология и токсикология, 1950, 13, 3, 56—57.
- Погосянц Е. Е. Лабораторные животные в онкологическом эксперименте. В кн.: Модели и методы экспериментальной онкологии. М., 1960, стр. 5—25.
- Правдин Н. С. Методика малой токсикологии промышленных ядов. М., 1947.
- Русин Н. М., Андропова Г. П., Сапронова И. Н., Васильева О. И. Гигиеническая оценка продовольственных культур, выращенных на почве, обработанной гексахлораном против колорадского жука. В кн.: Гигиена, токсикология и клиника новых инсектофунгицидов. М., 1959, стр. 148—154.
- Сахаров П. П. Лабораторные мыши и крысы. М., 1933.
- Сахаров П. П., Метелкин А. И., Гудкова Е. И. Лабораторные животные. М., 1958.
- Терентьев П. В. и др. Кролик. М., 1952.
- Тягин Н. В. К методике фиксации мелких лабораторных животных. Лабораторное дело, 1957, 6, 47—48.
- Cohrs P., Jaffe R. u. Meessen H. Pathologie der Laboratoriumstiere. Bd. 1—2. Berlin, 1958.
- Hoffman G. u. Kurzer. Abriss der Anatomie und Physiologie der Laboratoriumstiere, 1956.
- Nieberle K. N. u. Cohrs P. Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere. Jena, 1954.
- Schermer S. Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere. Leipzig, 1954.

Ко 2-й главе

- Аничков С. В. Участие рефлексов с химиорецепторов в токсикологических процессах. Фармакология и токсикология, 1955, 18, 1, 3—7.
- Бухтияров А. Г. О реакциях организма на введение раздражителей в кровь. Автореф. дисс. докт. Л., 1955.
- Веллинг Е. И. К токсикологии тринитротолуола. Фармакология и токсикология, 1943, 6, 2, 61—65.

- Елизарова О. Н. Изучение функций желудка при определении пороговых доз токсических веществ. Гигиена и санитария, 1960, 8, 47—52.
- Елизарова О. Н., Замыслова С. Д. Предельно допустимые концентрации тетранитрометана в водоемах. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1954, 2, 172—178.
- Окишев Ф. Р. О методике введения жидкостей лабораторным животным per os. Лабораторная практика, 1932, 6, 7—9.
- Попов Н. В. Судебная медицина. Учебник для высших мед. учеб. заведений. М., 1950.
- Правдин Н. С. Руководство промышленной токсикологии. М.—Л., 1934.
- Штаркенштейн Э., Рост З., Поль И. Токсикология. Вып. 2, М., 1933.
- Carlson A. J. a. Woelfel. The solubility of lead salts in human gastric juice and its bearing on the Hygiene of the lead industries. J. amer. med. Ass. 1913, 61, 181—184.
- Grosse B. u. Grosse A. Ein Beitrag toxikologie des Orthotrikresylphosphates. Arch. exper. Path. Pharmacol. 1932, 168, 473—514.
- Schauder W. im Bch.: P. Martin. Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Berlin, 1922, IV.

К 3-й главе

- Драчев С. М. и др. Методы химического и бактериологического анализа воды. М., 1953.
- Елизарова О. Н., Гинсбург Ф. И., Уранова Е. В. Предельно допустимая концентрация тринитротолуола в водоемах. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1954, 2, 164—171.
- Забезинская Н. А., Уранова Е. В. Об изменениях высшей нервной деятельности и других функций животных под влиянием малых доз динитробензола и динитрохлорбензола. В кн.: Вопросы токсикологии и патофизиологии в гигиене. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана.) М., 1960, стр. 76—80.
- Павленко С. М. О некоторых методах изучения поведения животных при действии ядов (флотореагента ОПС-М). В кн.: Вопросы токсикологии и патофизиологии в гигиене. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана.) М., 1960, 3, 17—21.
- Промышленная токсикология. М.—Л., 1934. Под ред. Г. Д. Арнаутова и И. Г. Гельмана.
- Тейсингер Я. А. и др. Химические методы исследования биологического материала в промышленной токсикологии. Пер. с чеш. М., 1959.
- Черкинский С. Н. Проблемы гигиенического нормирования в области санитарной охраны водоемов на современном этапе. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1959, 3, 5—64.

- Аксюк А. Ф. О методике автоматической (электрической) регистрации показателей условнорефлекторной деятельности у мелких лабораторных животных. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана.) М., 1960, 3, 22—24.
- Александров И. С. Изменения глазосердечного рефлекса под влиянием наркотических веществ. Физиологический журнал СССР, 1951, 37, 1, 64—68.
- Александров И. С. и Малицкая Н. Г. Руководство к практическим занятиям по физиологии. Л., 1957.
- Александров И. С., Цибина М. Г. Некоторые данные о влиянии сланцевого бензина на условные рефлексы у мышей. В кн.: Материалы по токсикологии сланцепродуктов. (Труды Ленинградского научно-исследовательского института гигиены труда и профзаболеваний.) Л., 1947, 11, 1, 48—53.
- Альтгаузен А. Я. Лабораторные клинические исследования. М., 1948.
- Асатиани В. С. Биохимический анализ. Ч. 1 и 2. Тбилиси, 1951.
- Асатиани В. С. Биологические таблицы. Ч. 1. Тбилиси, 1960.
- Балаховский С. Д. и Балаховский И. С. Методы химического анализа крови. М., 1953.
- Бару А. В. Методика исследования двигательных пищевых условных рефлексов у птиц. Труды Института физиологии АН СССР имени И. П. Павлова. Л., 1953, 2, 449—453.
- Баяндуров Б. И. Условные рефлексы у птиц. Томск, 1937.
- Берзинь В. К., Блумберг М. Я. О методике постановки и оценки опсоно-фагоцитарной реакции. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 1958, 1, 124—130.
- Булавинцева А. И. и др. Регистрация артериального давления бескровным способом. Физиологический журнал СССР, 1952, 38, 3, 362—364.
- Бухтияров А. Г., Елизарова О. Н. и др. Методика изучения условнорефлекторной деятельности белых крыс при хроническом действии малых, пороговых количеств яда. М., 1960.
- Василенко Ю. И. Влияние на работоспособность малых концентраций ядовитых веществ. Врачебное дело, 1960, 2, 173—176.
- Ведяев Ф. П. Методика двигательных пищевых условных рефлексов у кроликов. Физиологический журнал СССР, 1954, 40, 6, 748—751.
- Векслер И. Г. Изменения иммунобиологической реактивности организма под влиянием перепадов температуры окружающего воздуха. Гигиена труда и профзаболеваний, 1959, 2, 23—27.
- Веселкин П. Н. Простая модификация установки для кратковременных определений потребляемого кислорода у мелких животных. Физиологический журнал СССР, 1955, 41, 1, 108—112.
- Водолазский Л. А. Техника клинической электрокардиографии. М., 1952.
- Глазова О. И. Отравления и первая помощь при них. М., 1944.

- Голубев А. А. К вопросу о применении метода условных рефлексов в токсикологии. Тезисы докладов научной сессии Ленинградского института гигиены труда и профзаболеваний. Л., 1957, стр. 38—39.
- Горшков С. И., Куликов К. Н. Хронорефлексометр — прибор для определения скрытого времени рефлекторных реакций, проходящих через разные уровни центральной нервной системы. В кн.: Вопросы физиологии в гигиене. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана.) М., 1959, 1, 3—12.
- Гостев В. С. Аппарат для взятия крови из хвоста крысы под вакуумом. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1949, 28, 5, 11, 382—383.
- Григорьев З. Э. Применение метода условных рефлексов для токсикологических целей. Тезисы докладов 5-й Ленинградской конференции по вопросам промышленной токсикологии. Л., 1957, стр. 17—19.
- Гуляева Л. Н. Изменение секреторной функции малой и большой кривизны желудка при нарушениях высшей нервной деятельности. В кн.: Научное совещание по проблемам физиологии и патологии пищеварения. Киев, 1954, стр. 53—54.
- Двоскин Я. Г. О методике изучения высшей нервной деятельности под влиянием малых концентраций бензина в условиях хронического круглосуточного ингаляционного воздействия. В кн.: Вопросы токсикологии и патофизиологии в гигиене. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана). М., 1960, 3, 25—28.
- Дзидзигури Т. Д. Изменения двигательной функции желудка у собак при нарушениях высшей нервной деятельности. В кн.: Тезисы докладов научного совещания по проблемам физиологии и патологии пищеварения. Киев, 1954, стр. 56—57.
- Долин А. О., Коморский Ю. М. Анализ функции головного мозга в процессе ошибочных перебежек крыс в лабиринте. Физиологический журнал СССР, 1937, 22, 2, 187—203.
- Капун З. С. К вопросу о влиянии соединений кобальта на деятельность желудка и слюнных желез. Фармакология и токсикология, 1955, 18, 5, 46—49.
- Карамян А. И. Об особенностях патологии высшей нервной деятельности у низших позвоночных. Физиологический журнал, 1953, 39, 5, 561—570.
- Китаев Ю. М. Влияние наркотиков и стимуляторов ц.н.с. на время наступления трупного окоченения. Фарм. и токс., 1958, т. XXI, № 5, 13—16.
- Ковалевский К. А. Лабораторное животноводство. М., 1958.
- Коган А. Новый плетизмографический аппарат для конвейерного определения артериального давления у ненаркотизированных крыс бескровным путем. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1959, 48, 10, 109—113.
- Котляревский Л. И. Методика изучения двигательных условных рефлексов у некоторых мелких животных. Журнал высшей нервной деятельности, 1951, 1, 5, 753—761.
- Коштоянц Х. Основы сравнительной физиологии. Ч. I, 1940.
- Кудрявцев А. А. Исследование крови в ветеринарной диагностике. Ч. 1—2, М., 1952.

- Лазарев Н. В. Опыт двадцатилетней работы лаборатории промышленной токсикологии. Сборник работ токсикологической лаборатории Ленинградского научно-исследовательского института гигиены. Л., 1948, 5, 3—37.
- Лаппо В. Г. О методике изучения изменений высшей нервной деятельности под влиянием малых доз цианистого калия. В кн.: Вопросы токсикологии и патофизиологии в гигиене. М., 1960, 3, 29—31. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана.) М., 1960, 3, 29—31.
- Лазовский Ю. М. Функциональная морфология желудка в норме и патологии. М., 1947.
- Лепешкин Е. (E. Lepeshkin). Modern electrocardiography Philadelphia, 1958.
- Лосев Н. И., Миклашевский В. Е. Электронный интегратор для регистрации двигательных реакций (на примере методики двигательного-пищевых условных рефлексов у мелких животных). В кн.: Внедрение в практику некоторых новых методов диагностики лечения и профилактики важнейших заболеваний. М., 1961, стр. 132—133.
- Люблина Е. И. Измерение различных характеристик флексорного рефлекса как метод экспериментального изучения действия промышленных ядов на нервную систему. В кн.: Исследования в области промышленной токсикологии. Л., 1948, стр. 51—65.
- Малиновский О. В. Методика двигательных пищевых условных рефлексов у кроликов. Физиологический журнал, 1952, 38, 5, 637—639.
- Малиновский О. В. Условное торможение у кроликов. Труды Института физиологии АН СССР. Л., 1953, 2, 470—478.
- Мальский Д. И. К вопросу о гипергликемической кривой при некоторых заболеваниях печени. Терапевтический архив, 1931, 9, 4—6, 335—341.
- Миклашевский В. Е. Влияние фенамина на деятельность высших отделов центральной нервной системы белых крыс в условиях дифтерийной интоксикации. В кн.: Вопросы патофизиологии и экспериментальная терапия нарушений высшей нервной деятельности животных. М., 1959, стр. 129—157.
- Миклашевский В. Е. Стимулирующее действие фенамина на защитные лейкоцитарные реакции (фагоцитоз) и возможность условнорефлекторного воспроизведения этого эффекта. Патофизиология и экспериментальная терапия, 1961, 5, 2, 35—39.
- Миклашевский В. Е. и Тугаринова В. Н. Статистическая обработка материалов, исследования условнорефлекторной деятельности животных в токсикологическом эксперименте. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1961, 5.
- Мордовцев А. И. Новый способ изучения сократительной деятельности желудка посредством регистрации изменений внутрижелудочного воздушного давления. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1952, 6, 16—19.
- Морева Е. В. Фармакологический анализ посмертного окоченения скелетной мышцы. (Влияние азиды и фторида натрия на скорость посмертного окоченения.) Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1954, 38, 10, 54—56.

- Навроцкий В. К. Иммунобиологическая реактивность как метод установления предельно допустимых концентраций вредно действующих химических веществ в воздухе помещений. Гигиена и санитария, 1960, 6, 29—33.
- Никитин В. Н. Атлас клеток крови сельскохозяйственных и лабораторных животных. М., 1949.
- Образцова Г. А. Возникновение и развитие условнорефлекторной деятельности в онтогенезе у кролика. Труды Института физиологии имени И. П. Павлова. Л., 1952, 1, 166—177.
- Озерова В. Ф. Об изменениях высшей нервной деятельности и других функций под влиянием малых доз анилина. В кн.: Вопросы токсикологии и патофизиологии в гигиене. (Ученые записки Московского научно-исследовательского института санитарии и гигиены имени Ф. Ф. Эрисмана.) М., 1960, 3, 81—83.
- Перепелкин С. Р., Канаревская А. А., Иванов Н. И. Эвакуаторная функция желудочно-кишечного тракта у кроликов в условиях нормального кормления и голодания. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1947, 23, 4, 286—288.
- Петрунькин М. Л., Петрунькина А. М. Практическая биохимия. М., 1951.
- Покровский В. А. Морфологический состав крови у некоторых лабораторных животных. Лабораторная практика, 1940, 10, 17—18.
- Правдин Н. С. Советская промышленная токсикология к 30-летию Великой Октябрьской социалистической революции. Фармакология и токсикология, 1947, 10, 5, 49—63.
- Правдин Н. С. Пути и методы оценки степени токсичности новых химических веществ. XII Всесоюзный съезд гигиенистов, эпидемиологов, микробиологов и инфекционистов. М., 1949, 1, 173—177.
- Предтеченский В. Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям. М., 1960.
- Пронин Л. А. Влияние образования оборонительных условных рефлексов и срывов высшей нервной деятельности на состояние реактивности у кроликов. В кн.: Проблема реактивности в патологии. М., 1954, стр. 217—225.
- Путилин Н. И., Старицкая Л. Н. Торможение секреции желудка и поджелудочной железы под влиянием физической нагрузки в условиях высокой температуры. (Выступление в прениях на IX научной сессии Института питания АМН СССР.) Вопросы питания, 1955, 4, 51—52.
- Пятницкий Н. П. Простой способ определения пепсина в желудочном соке. Клиническая медицина, 1955, 33, 4, 74—76.
- Разенков И. П. Новые данные по физиологии и патологии пищеварения. М., 1948.
- Родкина Е. С. Влияние гормонов щитовидной и поджелудочной железы на образование гиппуровой кислоты в организме. Автореферат дисс. канд. Харьков, 1953.
- Розин М. А. Методы экспериментального получения заболеваний нервной системы. В кн.: Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. Л., 1954. Глава IX. Раздел 3—6.
- Ронинсон М. Исследование функционального состояния печени при нагрузке галактозой. Клиническая медицина, 1941, 19, 5, 86—95.

- Рылова М. Л. О методах исследования действия ядов при хроническом отравлении животных. В кн.: Гигиена, токсикология и клиника новых инсектофунгицидов. М., 1959, стр. 44—50.
- Скородинский З. П. Влияние световых раздражителей на двигательную и секреторную деятельность желудка лошадей и собак. В кн.: Доклады научного совещания по проблемам физиологии и патологии пищеварения. Киев, 1954, стр. 162—163.
- Смелянский З. Б. Международный симпозиум по предельно допустимым концентрациям токсических веществ в промышленности. Гигиена труда и профессиональных заболеваний, 1959, 4, 56—59.
- Сперанская Е. Н. Методика операций на пищеварительном тракте в условиях хронического эксперимента. М., 1952.
- Спыну Е. И. Метод объективной регистрации двигательных пищевых условных рефлексов у кошек. Тезисы докладов научной сессии в честь 300-летия воссоединения Украины с Россией Киевского научно-исследовательского института гигиены труда и профессиональных заболеваний. Киев, 1954, стр. 14—15.
- Степанова Н. Г. О нарушении некоторых функций печени при интоксикации диметилформамидом. В кн.: Токсикология новых промышленных химических веществ. М., 1961, 1, 80—84.
- Стражеско Н. Д., Евтухова М. Л. Задачи и возможности функционального исследования печени. Клиническая медицина, 1941, 19, 5, 3—20.
- Танк Л. И. Индивидуальная чувствительность к динитрофенолу и спонтанное обезвреживание его в организме в различные периоды постнатального развития мышей и крыс. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1954, 35, 6, 34—37.
- Танк Л. И. О скорости посмертного окоченения в различных стадиях постнатального развития. Физиологический журнал СССР, 1954, 40, 2, 221—223.
- Тугаринова В. Н., Алексеева Н. П., Дружинина В. Л. Возможность использования фотоэлектрического эритрогемометра для определения количества эритроцитов у лабораторных животных в токсикологических исследованиях. Гигиена и санитария, 1960, 8, 52—55.
- Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е., Алексеева Н. П., Яковлева Г. П. Экспериментальное обоснование предельно допустимых концентраций тетрахлорэтана и гексахлорэтана в воде водоемов. В кн.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами. М., 1961, 5.
- Уголев А. М. Изолированный желудочек на передней стенке. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1957, 44, 7, 108—112.
- Фаддеева В. К. Влияние фенамина на деятельность высших отделов центральной нервной системы животных (белых крыс). Журнал высшей нервной деятельности, 1951, 1, 2, 165—186.
- Фарман И. С. Материалы к клинике поражений желудка при хронической интоксикации тринитротолуолом. В кн.: Тезисы докладов научной конференции Горьковского института гигиены труда и профзаболеваний за 1955 г. Горький, 1956, стр. 35—36.
- Филиппович С. И. Материалы к механизмам регуляции деятельности слюнных желез. Дисс., 1948.
- Фрейфельд Е. И. Гематология. М., 1947.

- Фридлянд И. Г. О так называемом неспецифическом действии промышленных ядов. М., 1957.
- Фридлянд И. Г. К вопросу о влиянии промышленных ядов на иммунобиологическое состояние организма. Гигиена и санитария, 1959, 8, 55—61.
- Чернов В. М. О методах некроваго определения кровяного давления у мелких лабораторных животных в хронических опытах. Фармакология и токсикология, 1947, 10, 2, 39—44.
- Шароватова О. Ф. Подыскание рационального пищевого режима, уменьшающего вредное влияние анилина на секрецию желудочного сока. Труды Всесоюзного института экспериментальной медицины. Л., 1933, I, 1, 177—185.
- Шванг Л. И., Федоров А. Д. О применении пьезоэлементов для регистрации некоторых физиологических процессов. Физиологический журнал СССР, 1954, 40, 1, 90—94.
- Ширкова Г. И. Двигательные условные рефлексы на сложные (цепные) раздражители у белых крыс. Труды Института высшей нервной деятельности. М., 1955. Серия патофизиологическая, 1, 78—95.
- Ширкова Г. И. К вопросу о возможности проведения опытов по условным рефлексам с животными два раза в день. Труды Института высшей нервной деятельности. М., 1955. Серия патофизиологическая, 1, 159—160.
- Шпиндлер Д. Л. Влияние силицевой пыли на моторную, секреторную и экскреторную функции желудка собаки. Дисс. канд. Алма-Ата, 1949.
- King E. J. a. Aitken R. S. An intravenous galactose-tolerance test. Lancet, 1940, 2, 6114, 543—545.
- King E. J. et al. A galactose-tolerance test in experimental liver necrosis. Lancet, 1940, 2, 5114, 541—543.
- Somogyi M. Reducing non-sugars and true sugar in human blood. J. Biol. chem. 1927, 75, 1, 33—43.
- Williams J. R., Harrison T. R. a. Grollman A. A simple method for determining the systolic blood pressure on the unanesthetized rats. J. Clin. Investig., 1939, 18, 3, 373—376.

К 5-й главе

- Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959.
- Боярский А. Я. Статистические методы в экспериментальных медицинских исследованиях. М., 1955.
- Вигдорчик И. А. Применение статистики в клинике. Л., 1954.
- Каминский Л. С. Обработка клинических и лабораторных данных. Л., 1959.
- Карасик В. М. Кривые индивидуальной чувствительности в фармакологическом анализе. Успехи современной биологии, 1944, 17, 1, 71—86.
- Кларк А. Дж. Дискуссия о химических и физических основах фармакологического действия. Успехи современной биологии, 1937, 7, 1, 102—107.
- Кувшинников П. А. Статистический метод в клинических исследованиях. М., 1955.

- Лазарев Н. В., Гегель О. Г. Исследование токсичности различных фракций сланцевого бензина. В кн.: Материалы по токсикологии сланцепродуктов. Л., 1947, стр. 24—24.
- Першин Г. Н. Материалы к изучению пироплазмина. Фармакология и токсикология, 1939, 2, 3, 23—30.
- Першин Г. Н. Определение средней смертельной дозы. Фармакология и токсикология, 1950, 13, 3, 53—56.
- Шадурская В. С. По поводу определения средней смертельной дозы. Фармакология и токсикология, 1953, 16, 3, 48—50.
- Behrens B. Zur Auswertung der Digitalisblätter im Froschversuch. Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 1929, 140, 237—256.
- Bliss G. J. Determination of the small dosage — mortality curve from small numbers. Quart. J. Pharmacy u Pharmacol., 1938, 11, 192—216.
- Kärber G. Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. Arch. exp. Path. u Pharmacol. 1931, 162, 480—483.
- Miller L. C. Tainter M. L. Estimation of the ED₅₀ and its error by means of logarithmic probit graph paper. Proc. soc. exp. biol. med. 1944, 57, 2, 261—264.
-

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
<i>Глава 1. Некоторые предпосылки к проведению эксперимен-</i>	
<i>тальных исследований на животных</i>	<i>6</i>
Состояние организма подопытных животных	7
Внешний вид и поведение животного	7
Условия содержания лабораторных животных	9
Выбор животных для эксперимента	12
Маркировка животных	16
<i>Глава 2. Особенности действия ядов при пероральном вве-</i>	
<i>дении</i>	<i>21</i>
Формы перорального введения химических препаратов	28
Введение токсических веществ в чистом виде	28
Введение токсических веществ в растворах	28
Способы перорального введения химических веществ	30
Введение токсического вещества в ротовую полость	31
Введение токсических веществ непосредственно в же-	
лудок	33
Введение химического вещества с питьевой водой и	
пищей	40
<i>Глава 3. Определение токсичности химических веществ при</i>	
<i>пероральном введении</i>	<i>45</i>
Схема проведения санитарно-токсикологического иссле-	
дования	46
Проведение острого токсикологического эксперимента	48
Постановка подострого опыта	55
Особенности хронического санитарно-токсикологическо-	
го исследования	57
<i>Глава 4. Некоторые методики, применяемые в санитарно-</i>	
<i>токсикологическом эксперименте</i>	<i>65</i>
Наблюдение за динамикой веса животных	66
Измерение температуры тела	69
Регистрация дыхания	71
Регистрация пульса	72
Показатели дыхания, пульса и температуры у животных	
Исследование газообмена (потребления кислорода)	74
Изучение иммунобиологической реактивности	76
Определение продолжительности жизни в условиях кис-	
лородного голодания	79

Исследование работоспособности	79
Пробы с изменением режима существования животных .	80
Функции сердечно-сосудистой системы	82
Изучение биотоков сердца	82
Измерение кровяного давления	82
Изучение морфологической картины и физико-химичес-	
ких свойств крови	84
Значение биохимических показателей крови и мочи . .	87
Способы взятия крови и сбора мочи	88
Функциональные исследования печени	90
Функциональные исследования почек	94
Некоторые методы исследования функции пищеварения .	94
Методики, применяемые для оценки функции пищева-	
рения у собак	95
Методики, применяемые для изучений функций желуд-	
ка кроликов	98
Методы изучения состояния высшей нервной деятельности	107
Исследование безусловнорефлекторной деятельности .	107
Изучение состояния условнорефлекторной деятельности	
животных	113
Глава 5. Некоторые приемы обработки полученных экспери-	
ментальных данных	143
Способы графического изображения	143
Статистическая обработка экспериментальных материалов	147
Построение кривых индивидуальной чувствительности .	148
Вычисление средней смертельной дозы	153
Литература	163

79
80
82
82
82

84
87
88
90
94
94

95

98
107
107

113

143
143
147
148
153
163

ЕЛИЗАРОВА ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА

**Определение пороговых доз
промышленных ядов
при пероральном введении**

Редактор *В. Е. Миклашевский*
Техн. редактор *Н. А. Бульдяев*
Корректор *Л. Ф. Карасева*

Сдано в набор 30/I 1962 г. Подписано к печати
17/V 1962 г. Формат бумаги $84 \times 108 \frac{1}{32} = 5,5$ печ. л.
(условных 9,02 л.). 8,74 уч.-изд. л. Тираж 3 500 экз.
Т 05437. МБ—53. Заказ 81. Цена 54 коп.

Медгиз, Москва, Петроверигский пер., 6/8.

Полиграфический комбинат Ярославского совнар-
хоза, г. Ярославль, ул. Свободы, 97.

Цена 54 коп.

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
ГОТОВИТ К ИЗДАНИЮ
В 1962 ГОДУ**

**“КАЛЕНДАРЬ ВРАЧА
НА 1963 ГОД”**

Под ред. проф. *И. Г. Кочергина.*

Справочно-информационные материалы, сведения, данные
«Календаря» будут интересны и полезны каждому на-
учному работнику и практическому врачу

Предварительный заказ на «Календарь врача на 1963 год»
можно оформить в любом книжном магазине

**МЕДГИЗ
1962 г.**

THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS
PUBLISHED BY THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS
CHICAGO, ILL. 60637
1968